

Amorphe Laktose

Untersuchungen zur Quantifizierung
und zum Einfluss auf die Stabilität
von Pulvermischungen zur Inhalation

Dissertation

Ronja Wittmann

Kiel 2014

Erster Gutachter:	Prof. Dr. Hartwig Steckel
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. Christian Peifer
Tag der mündlichen Prüfung:	26.09.2014
Zum Druck genehmigt:	26.09.2014

gez. Prof. Dr. Wolfgang Duschl (Dekan)

*So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig, man muß sie für fertig erklären,
wenn man nach Zeit und Umständen das Mögliche getan hat.*

Johann Wolfgang von Goethe

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

R. Wittmann, E. Schwarz, B. Irlinger, H. Steckel (2012):

Quantification of Amorphous Content in Inhalation Powders by Moisture Sorption Analysis, *8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Istanbul

R. Wittmann, E. Schwarz, H. Steckel (2012)

The Influence of Amorphous Content in Lactose on the De-agglomeration Behavior of Powders for Inhalation, *Drug Delivery to the Lungs 23*, Edinburgh

R. Wittmann and H. Steckel (2013)

The Influence of Storage Conditions on the De-agglomeration Behavior of Inhalation Powders Containing Amorphous Lactose, *Drug Delivery to the Lungs 24*, Edinburgh

Das Fehlen einer besonderen Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Zielsetzung	3
2	Theoretischer Hintergrund	4
2.1	Inhalative Applikation von Wirkstoffen	4
2.1.1	Einleitung	4
2.1.2	Inhalative Applikationssysteme	7
2.1.3	Pulverinhalatoren	8
2.1.3.1	Interpartikuläre Kräfte	11
2.1.3.2	Amorphe Anteile in Pulvern zur Inhalation	13
3	Materialien	16
3.1	Laktose	16
3.1.1	Allgemeines	16
3.1.2	Kristalline Laktose	17
3.1.3	Amorphe Laktose	17
3.2	Budesonid	18
3.3	Salbutamolsulfat	19
4	Methoden	21
4.1	Methoden zur Amorphisierung von Laktose	21
4.1.1	Sprühtrocknung	21
4.1.2	Mahlung mit der Planetenkugelmühle	22
4.1.3	Mahlung mit der Luftstrahlmühle	24
4.2	Methoden zur Herstellung von Pulvermischungen	24
4.2.1	Bestimmung der Restfeuchte	24

4.2.2	Herstellung von Mischungen aus kristalliner und amorpher Laktose	25
4.2.3	Herstellung interaktiver Pulvermischungen	26
4.2.4	Lagerung der interaktiven Pulvermischungen	27
4.2.5	Bestimmung der Homogenitäten interaktiven Pulvermischungen.....	27
4.2.6	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie.....	27
4.3	Methoden zur Charakterisierung von Laktose und interaktiven Pulvermischungen	28
4.3.1	Mikrokalorimetrie.....	28
4.3.2	Dynamische Wasserdampfsorption.....	29
4.3.3	Röntgendiffraktometrie	31
4.3.4	Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels Stickstoffadsorption.....	32
4.3.5	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mittels Laserdiffraktometrie.....	32
4.3.6	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	33
4.3.7	Bestimmung des anomeren Verhältnisses mittels Kernspinresonanzspektroskopie	34
4.3.8	Charakterisierung des aerodynamischen Verhaltens von interaktiven Pulvermischungen	35
4.3.9	Pulverrheologie.....	38
4.3.10	Schütt- und Stampfdichte	39
4.4	Statistische Methoden	39
	Praktischer Teil	40
5	Quantifizierung des amorphen Anteils in Laktose.....	40
5.1	Einleitung.....	40
5.2	Mikrokalorimetrie.....	43

5.3	Dynamische Wasserdampfsorption.....	47
5.3.1	Einleitung und theoretischer Hintergrund.....	47
5.3.2	Wassersorptionsverhalten amorpher Laktose	51
5.3.3	Kalkulation des amorphen Anteils über die Kapazität der monomolekular gebundenen Feuchtigkeitsschicht.....	54
5.3.4	Kalkulation des amorphen Anteils über die Massenzunahme bei einer definierten Feuchte	59
5.4	Untersuchung von Einflussfaktoren auf das Wassersorptionsverhalten amorpher Laktose	63
5.4.1	Einleitung.....	63
5.4.2	Unterschiede zwischen sprühgetrockneter und gemahlener Laktose	64
5.4.2.1	Partikelgrößenverteilung.....	64
5.4.2.2	Spezifische Oberfläche	65
5.4.2.3	Anomeres Verhältnis	66
5.4.2.4	Wassersorptionskapazität	67
5.4.3	Einflüsse auf das Wassersorptionsverhalten gemahlener Laktose	69
5.4.3.1	Einfluss der Mahldauer.....	70
5.4.3.2	Einfluss der Mahlung unter Stickstoffbegasung.....	72
5.4.3.3	Einfluss des Messzyklusses und des Herstellungszeitpunktes	74
5.4.3.4	Einfluss der Lagerstabilität.....	77
5.4.4	Zusammenfassung	79
6	Stabilitätsuntersuchungen interaktiver Pulvermischungen	81
6.1	Einleitung.....	81
6.2	Charakterisierung der verwendeten Träger	82
6.2.1	Partikelgrößenverteilung.....	82

6.2.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	83
6.2.3	Einfluss der Lagerung auf die amorphen Anteile	84
6.3	Interaktive Pulvermischungen mit 4% Budesonid	86
6.3.1	Aerodynamische Charakterisierung	86
6.3.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	88
6.3.3	Diskussion der Ergebnisse	90
6.3.4	Untersuchung des Einflusses der Lagerung interaktiver Pulvermischungen über Phosphorpentoxid	93
6.4	Interaktive Pulvermischungen mit 4% Salbutamolsulfat	101
6.4.1	Aerodynamische Charakterisierung	101
6.4.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	103
6.4.3	Diskussion der Ergebnisse	105
6.5	Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Wirkstoffanteil	107
6.5.1	Einleitung	107
6.5.2	Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Budesonid	108
6.5.2.1	Aerodynamische Charakterisierung	108
6.5.2.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	109
6.5.3	Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Salbutamolsulfat	111
6.5.3.1	Aerodynamische Charakterisierung	111
6.5.3.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	112
6.5.3.3	Diskussion der Ergebnisse	113
6.6	Zusammenfassung	120
7	Untersuchungen zum Einfluss der Partikelgröße amorpher Laktose auf Inhalationspulver	122
7.1	Einleitung	122
7.2	Untersuchungen zum Zusatz mikronisierter amorpher Laktose	124

7.2.1	Charakterisierung der Träger	124
7.2.1.1	Partikelgrößen.....	124
7.2.1.2	Sorptionsisothermen und amorphe Anteile	125
7.2.1.3	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	126
7.2.2	Interaktive Pulvermischungen.....	128
7.2.2.1	Aerodynamische Charakterisierung.....	128
7.2.2.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	131
7.2.3	Diskussion der Ergebnisse	133
7.3	Untersuchungen zum Zusatz teilamorphisierter Laktose	135
7.3.1	Einleitung.....	135
7.3.2	Charakterisierung der Träger.....	136
7.3.2.1	Partikelgrößenverteilung.....	136
7.3.2.2	Sorptionsisothermen und amorphe Anteile	137
7.3.2.3	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	138
7.3.3	Interaktive Pulvermischungen.....	139
7.3.3.1	Aerodynamische Charakterisierung.....	139
7.3.3.2	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	141
7.3.4	Diskussion der Ergebnisse	142
7.4	Statistischer Versuchsplan zum Einfluss des Arzneistoffgehaltes und des Gehaltes amorpher Laktose.....	144
7.4.1	Einleitung.....	144
7.4.2	Ergebnisse	145
7.4.3	Diskussion der Ergebnisse	148
7.5	Zusammenfassung	150
8	Einfluss eines veränderten Kristallisationsprozesses auf Inhalationslaktose	152
8.1	Einleitung.....	152

8.2	Charakterisierung der Laktoseträger.....	153
8.2.1	Partikelgrößenverteilung.....	153
8.2.2	Sorptionsisothermen und amorphe Anteile.....	154
8.2.3	Anomeres Verhältnis	155
8.2.4	Schütt- und Stampfdichte	156
8.2.5	Pulverrheologie.....	157
8.2.6	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	160
8.3	Interaktive Pulvermischungen mit Budesonid	161
8.3.1	Aerodynamische Charakterisierung.....	161
8.3.2	Pulverrheologie.....	164
8.3.3	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	166
8.4	Interaktive Pulvermischungen mit Salbutamolsulfat	168
8.4.1	Aerodynamische Charakterisierung.....	168
8.4.2	Pulverrheologie.....	171
8.4.3	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	173
8.5	Zusammenfassung	174
9	Zusammenfassung der Arbeit	176
10	Abstract.....	178
11	Anhang	180
11.1	Abkürzungsverzeichnis	180
11.2	Literaturverzeichnis.....	181

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Einleitung

Die direkte Applikation von Wirkstoffen über die Lunge bietet vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Obwohl es ein zunehmendes Interesse an Formulierungen gibt, die eine systemische Wirkung der über die Lunge verabreichten Wirkstoffe zur Folge haben, liegt das Hauptanwendungsgebiet der Inhalativa zurzeit immer noch im Bereich der lokalen Therapie von Erkrankungen der Atemwege, wie dem Asthma bronchiale und der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD). Die inhalative Applikation birgt den Vorteil einer geringeren notwendigen Dosierung bei gleichzeitiger Verringerung der systemischen Nebenwirkungen (Rau, 2005).

Neben den Verneblern und den Druckgasdosieraerosolen nehmen die Trockenpulverinhalatoren, deren Bedeutung seit dem Verbot FCKW-haltiger Formulierungen für die Druckgasdosieraerosole zunimmt, einen großen Stellenwert in der inhalativen Therapie ein. Damit die Wirkstoffe auch in die tieferen Regionen der Lunge vordringen und dort ihre Wirkung entfalten können, müssen die Partikel einen aerodynamischen Durchmesser von kleiner 5 μm aufweisen (Malcolmson und Embleton, 1998, Brand et al., 1999). Die Wirkstoffe werden deshalb in mikronisierter Form angewendet, was zu einer starken Erhöhung der kohäsiven Kräfte zwischen den einzelnen Wirkstoffpartikeln führt (Newman und Busse, 2002). Dies kann zur Folge haben, dass die mikronisierten Wirkstoffpartikel so stark agglomerieren, dass diese Agglomerate im Luftstrom während des Inhalationsvorganges nicht mehr aufgebrochen werden können. Der Wirkstoff impaktiert aufgrund der Größe der Agglomerate in den oberen Atemwegen und kann nicht mehr in die tieferen Regionen der Lunge gelangen. Aus diesem Grund werden in der Formulierung von Inhalationspulvern oft Hilfsstoffe von deutlich größerer Partikelgröße eingesetzt, die als Träger für den mikronisierten Wirkstoff dienen (Timsina et al., 1994). Durch Mischen des groben Trägers mit dem mikronisierten Wirkstoff entsteht eine interaktive

Pulvermischung, in der der Wirkstoff auf der Oberfläche des Trägers gebunden ist. Die Adhäsionskräfte zwischen Träger und mikronisiertem Wirkstoff sind in der Regel wesentlich schwächer als die Kohäsionskräfte in reinen Wirkstoffagglomeraten, so dass der Wirkstoff durch die Kräfte, die durch den Luftstrom während der Inhalation wirken, wieder leichter vom Träger gelöst werden kann. Der Wirkstoff kann so auch die tieferen Regionen der Lunge erreichen, während der Träger aufgrund seiner groben Partikelgröße schon im Rachen abgeschieden wird.

Als Träger für interaktive Pulvermischungen zur Inhalation finden unterschiedliche Hilfsstoffe Anwendung, wobei verschiedenste Zucker und Zuckeralkohole eingesetzt werden können (Rahimpour et al., 2014). Der am häufigsten eingesetzte Hilfsstoff als Träger in Pulverformulierungen zur Inhalation ist das α -Laktose-Monohydrat. Die Gewinnung und Herstellung des α -Laktose-Monohydrats kann über verschiedene Prozesse geschehen, die zu unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften des Laktoseträgers führen können. Es ist bekannt, dass Veränderungen in den Eigenschaften der Laktose, zu denen zum Beispiel die Partikelgröße, die Dichte der Partikel und die Oberflächenbeschaffenheit zählen, die Eigenschaften von Pulvern zur Inhalation entscheidend verändern können (Yang et al., 2014).

Während der Einfluss der Partikelgröße des Trägers und dessen Oberflächenstruktur auf die inhalierbare Fraktion von Inhalationspulvern schon vielfach untersucht wurde (Zeng et al., 2000, Zeng et al., 2001b, Louey et al., 2003), liegen nur wenige Daten dazu vor, wie sich amorphe Bereiche innerhalb der Laktose auf die Eigenschaften von Pulverformulierungen zur Inhalation auswirken.

1.2 Zielsetzung

Ein Ziel dieser Arbeit war es amorphe Anteile in Laktose, die über Sprühtrocknung oder Mahlung eingebracht wurden, zu quantifizieren. Da die zahlreichen bisher angewandten Verfahren zur Quantifizierung von amorphen Anteilen in Laktose den Nachteil aufweisen, dass die Bestimmung niedriger amorpher Konzentrationen nicht möglich ist, lag der Fokus in dieser Arbeit auf der Anwendung eines gravimetrisch basierten Wasserdampfsorptionsverfahrens. Hierbei werden amorphe Anteile nicht über die Massenzunahme bei Rekristallisation des Materials kalkuliert, sondern die Methode basiert auf dem unterschiedlichen Wassersorptionsverhalten kristalliner und amorpher Materialien unterhalb der zur Rekristallisation benötigten Feuchte.

Zudem sollte der Einfluss amorpher Anteile, die durch Mahlung von α -Laktose-Monohydrat entstanden sind, auf das aerodynamische Verhalten unterschiedlicher interaktiver Pulvermischungen und deren Lagerstabilität untersucht werden. Dabei wurde der Einfluss verschiedener Wirkstoffe, variierender Wirkstoffkonzentrationen und die Lagerstabilität über mehrere Wochen bei unterschiedlicher relativer Feuchte untersucht.

Der abschließende Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich schließlich mit der Charakterisierung zweier Chargen Laktose, die durch Veränderungen im Kristallisationsprozess bei der Herstellung Unterschiede in ihren physikochemischen Eigenschaften aufweisen. Auch hier wurde neben der reinen Charakterisierung der Laktose der Einfluss dieses veränderten Kristallisationsprozesses auf interaktive Pulvermischungen zur Inhalation, unter Verwendung unterschiedlicher Arzneistoffe, untersucht.

2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Inhalative Applikation von Wirkstoffen

2.1.1 Einleitung

Bereits im frühen 20. Jahrhundert wurde über erste Studien zur inhalativen Therapie von Atemwegserkrankungen berichtet (Graeser und Rowe, 1935). Eine weit verbreitete Anwendung findet die inhalative Applikation von Wirkstoffen seit Mitte des 20. Jahrhunderts mit der Einführung der Druckgasdosieraerosole und bildet seit nunmehr über 50 Jahren den Grundstein der Therapie von Erkrankungen der Atemwege, wie Asthma bronchiale und COPD (Virchow et al., 2008). Sie zeichnet sich im Allgemeinen gegenüber der systemischen Verabreichung der Wirkstoffe dadurch aus, dass durch die direkte Applikation des Wirkstoffs an den Wirkort geringere Dosen verwendet werden können (Labiris und Dolovich, 2003a). Dies hat unter anderem den Vorteil, dass mit geringeren systemischen Nebenwirkungen zu rechnen und ein schnellerer Wirkeintritt zu erwarten ist (Dalby und Suman, 2003).

Neben den chronisch-obstruktiven Erkrankungen der Atemwege gerät auch immer mehr die Therapie weiterer Lungenerkrankungen, wie Mukoviszidose (Mogayzel et al., 2013), Lungenentzündung (Kollef et al., 2013) oder Tuberkulose (Misra et al., 2011), in den Fokus der inhalativen Therapie. Auch hier versucht man sich die Vorteile einer direkten Applikation des Wirkstoffes an den Wirkort zu Nutze zu machen. Hohe Konzentrationen der Antibiotika in den Atemwegen bei gleichzeitig geringerer systemischer Wirkung vermindern deren toxischen Effekte (Ballmann et al., 2011).

Während in den letzten Jahrzehnten der Schwerpunkt der inhalativen Therapie vor allem auf der lokalen Therapie von Atemwegserkrankungen lag, gewinnt in jüngerer Vergangenheit zunehmend die Verabreichung von Wirkstoffen zur systemischen Wirkung über die Atemwege an Bedeutung. Die inhalative Applikation stellt unter anderem eine interessante Alternative für Wirkstoffe dar,

die nicht oral verabreicht werden können und ansonsten nur parenteral über eine Injektion applizierbar sind.

Gerade für lipophile Wirkstoffe konnte eine schnellere Aufnahme des Wirkstoffs bei pulmonaler Applikation gezeigt werden (Sanjar und Matthews, 2001). Neben der schnelleren Aufnahme kommt es zudem für Wirkstoffe, die oral eine geringe Bioverfügbarkeit aufweisen, nach inhalativer Verabreichung zu einer Steigerung derselben (Tronde et al., 2003). Während bei oraler Gabe viele Wirkstoffe im Rahmen des „first-pass“-Effektes schon in der Leber durch Enzyme inaktiviert werden, bevor sie zur systemischen Wirkung gelangen können, ist die Expression von metabolisierenden Enzymen, in den Atemwegen wesentlich geringer. Eine Inaktivierung des Wirkstoffes kann so im Rahmen der inhalativen Therapie umgangen werden (Agu et al., 2001).

Der Fokus der Entwicklung der systemischen Inhalationstherapie liegt dabei auf der inhalativen Verabreichung von Proteinen. Aufgrund ihrer biochemischen Eigenschaften eignen sich die Proteine nicht zur oralen Applikation und müssen bisher in Form von Injektionen verabreicht werden. Die parenterale Applikation weist einige Nachteile auf. Oft ist die Compliance der Patienten sehr gering, die Formulierungen können in flüssiger Form Instabilitäten aufweisen oder falls eine flüssige Formulierung nicht möglich ist, müssen Pulver und Lösungsmittel direkt vor der Injektion extra miteinander vermischt werden. Deshalb ist gerade für diese Arzneistoffgruppe die Entwicklung einer inhalativen Formulierung, die diese Probleme umgeht, von besonderem Interesse. Die Bioverfügbarkeit von inhalativ applizierten Peptiden und Proteinen liegt um das 10- bis 200-fache höher als bei anderen nicht-invasiven Applikationsrouten. Der Wirkstoff kann sich aufgrund der 70-140 m² großen inneren Oberfläche der Atemwege (Patil und Sarasija, 2012) weit verteilen und durch die sehr gute, direkt unter der Oberfläche des Lungengewebes liegende, kapillare Durchblutung des Gewebes sehr schnell zur systemischen Wirkung gelangen (Malcolmson und Embleton, 1998). Dabei hängt die Geschwindigkeit der Absorption aber auch von der Größe der Moleküle ab, je größer ein Molekül ist, desto langsamer verläuft die Absorption über das Lungengewebe (Patton et al., 2004).

Seitdem anfängliche Probleme wie mangelnde Effektivität und Reproduzierbarkeit bei der inhalativen Applikation von Wirkstoffen ausgeräumt werden konnten, wurden in den vergangenen Jahren bereits Proteine für die unterschiedlichsten Anwendungsgebiete als inhalative Formulierungen in klinischen Studien getestet. Dazu gehören unter anderem Wachstumshormone, Calcitonin, Parathormone, Schilddrüsenhormone, Reproduktionshormone, Erythropoetin, Heparin und Insulin (Siekmeier und Scheuch, 2009).

Mit Exubera®, einem inhalierbaren Insulin der Firma Pfizer, kam im Jahre 2006 die erste proteinhaltige, inhalative Formulierung, die für eine systemische Wirkung gedacht war, auf den Markt. Bereits im nachfolgenden Jahr kam es allerdings aus wirtschaftlichen Gründen zur Marktrücknahme. Im Jahr 2014 hat die Firma Mannkind mit Afrezza® erneut für ein inhalierbares Insulin die Zulassung erhalten (Santos Cavaiola und Edelman, 2014).

Neben der inhalativen Applikation von Proteinen zur Behandlung von Krankheiten, findet auch die Verabreichung von Impfstoffen über die Lunge steigende Aufmerksamkeit. Die genannten Vorteile einer inhalativen Formulierung von Proteinen gelten auch für Impfstoffe. Hinzu kommen allerdings noch weitere Vorteile, die insbesondere die inhalative Vakzinierung so interessant machen. Die Impfung wird direkt an dem Ort durchgeführt, an dem die Pathogene aus der Luft auch in den Körper eindringen. Von Vorteil erweist sich dabei auch, dass die Oberfläche der Lungenschleimhaut ein Viertel der gesamten Schleimhaut des Körpers ausmacht (Pilette et al., 2001) und dass nahezu 80% der immunkompetenten Zellen in den Schleimhäuten des Körpers angesiedelt sind. Dadurch ist unter Verwendung geringer Dosen eine im Verhältnis hohe Immunantwort zu erreichen (Scherließ, 2011).

Das aufgezeigte steigende Interesse an der inhalativen Applikation von verschiedensten Wirkstoffen nicht nur zur lokalen, sondern auch zur systemischen Anwendung zeigt, dass die Bedeutung von inhalativen Formulierungen immer weiter steigt und ein umfassendes Verständnis dieser Formulierungen äußerst wichtig ist.

2.1.2 Inhalative Applikationssysteme

Zur Verabreichung von Wirkstoffen über die Lunge stehen drei Gruppen von Abgabesystemen zur Verfügung. Dazu zählen die Vernebler, die Druckgasdosieraerosole und die Pulverinhalatoren. Im Folgenden wird der Vollständigkeit halber kurz auf die generelle Funktionsweise der Vernebler und Druckgasdosieraerosole und deren Unterschiede zu den Pulverinhalatoren eingegangen werden. Die Pulverinhalatoren an sich werden im folgenden Kapitel detaillierter beschrieben, da deren Formulierungen von besonderer Bedeutung für die vorliegende Arbeit sind.

Die erste Gruppe der inhalativen Applikationssysteme, die Vernebler, enthalten Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen eines Wirkstoffes. Bei der Anwendung kommt es zu einem Zerreißen der Flüssigkeit zu feinsten Tröpfchen, die inhaliert und in der Lunge abgeschieden werden können. Die Aerosoltröpfchen entstehen dabei entweder mit Hilfe von Druckluft oder Ultraschall. Bei den Druckluftverneblern wird die Druckluft durch eine enge Düse gepresst. Durch die Entspannung des Druckes nach Austritt aus der Düse wird die den Wirkstoff enthaltende Flüssigkeit mitgerissen und in feinste Tröpfchen zerteilt. Demgegenüber stehen die Ultraschallvernebler, bei denen die Aerosoltröpfchen mit Hilfe von zur Kavitation führenden Ultraschallwellen, die durch einen Piezokristall erzeugt werden, entstehen (Dalby und Suman, 2003).

Zu den Nachteilen der Vernebler zählen ein relativ hoher Rückstand an Wirkstoff im Gerät, Verlust von Wirkstoff aus dem Vernebler während der Patient ausatmet und eine insgesamt geringe Dosis, die in die Atemwege gelangt. Zudem sind die Vernebler zeitintensiv in ihrer Anwendung und aufgrund der Größe der Geräte gestaltet sich ihre Mitnahme für den Patienten schwierig (Heijerman et al., 2009). Bei den Druckgasdosieraerosolen ist die den Wirkstoff enthaltende Lösung oder Suspension mit einem druckverflüssigten Gas versetzt. Bei der Auslösung des Dosieraerosols entstehen durch die Entspannung des Druckes feinste Flüssigkeitströpfchen, die nach der Inhalation in den Atemwegen abgeschieden werden. Vorteilhaft an den Dosieraerosolen ist die Tatsache, dass die Bildung der

Feinpartikelfraktion vom Volumenstrom des Patienten unabhängig ist. Es bedarf jedoch eines genauen Trainings des Patienten, da die Koordination zwischen Auslösung des Dosieraerosols und des Einatmens äußerst wichtig ist. Aber auch bei korrekter Inhalationstechnik wird meist nur ein geringer Anteil des Wirkstoffes auch tatsächlich in der Lunge abgeschieden. Dies hängt vor allem mit der hohen Austrittsgeschwindigkeit der Aerosoltröpfchen aus dem Dosieraerosol zusammen (Clark, 1995). Aufgrund der hohen Geschwindigkeit impaktiert ein Großteil der Tröpfchen schon im Rachen und gelangt nicht in die tieferen Atemwege. Dieses Problem kann zum Teil durch den Einsatz eines Spacers, der auf das Mundstück des Dosieraerosols gesetzt wird und in dessen Inneren sich die Tröpfchen verlangsamen, minimiert werden (Vidgren et al., 1987). Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass es durch die Formulierung in einem flüssigen Medium zu Stabilitätsproblemen des Wirkstoffes kommen kann. Mit dem Protokoll von Montreal, das 1989 in Kraft trat wurde auch für die Dosieraerosole die Verwendung von FCKW-haltigen Treibmitteln untersagt. Alternative Formulierungen unter Verwendung von Hydrofluoralkanen mussten in der Folge erst entwickelt und optimiert werden, wodurch die Pulverinhalatoren zunehmend an Bedeutung gewannen (Newman, 1990).

2.1.3 Pulverinhalatoren

Mit der Einführung des Spinhalers® im Jahre 1971 kam, knapp 20 Jahre nach der Einführung des ersten Druckgasdosieraerosols, der erste Einzeldosenpulverinhalator auf den Markt. Weitere 17 Jahre später folgte mit dem Turbohaler® der Firma AstraZeneca der erste Mehrfachdosenpulverinhalator (Ashurst et al., 2000). Pulverinhalatoren sind im Vergleich zu den Verneblern und Druckgasdosieraerosolen einfacher in ihrer Handhabung durch den Patienten. Aufgrund der Tatsache, dass die Pulverinhalatoren durch den Atemzug des Patienten ausgelöst werden, hängt der Erfolg der Therapie nicht wie bei den Druckgasdosieraerosolen von der Koordination zwischen Auslösung und Einatmung ab.

Allerdings kann es auch bei den Pulverinhalatoren zu starken Unterschieden in der inhalierbaren Fraktion kommen. Dabei spielen drei grundlegende Einflussfaktoren eine maßgebliche Rolle. Zum einen ist der tatsächliche inhalierbare Fraktion einer Formulierung vom Patienten abhängig, da diese vom Volumenstrom, mit dem der Patient einatmet, abhängt. Des Weiteren haben die physiko-chemischen Eigenschaften der verwendeten Pulverformulierungen einen großen Einfluss auf die Deagglomeration des Pulvers während der Inhalation. Als dritte Komponente spielt der Aufbau des Inhalators selber und dessen Deagglomerationseffizienz bei entsprechendem Volumenstrom für die jeweilige Pulverformulierung eine große Rolle (Labiris und Dolovich, 2003b).

Durch die Verwendung mikronisierter Wirkstoffe ergeben sich einige spezielle Anforderungen an die Pulverformulierungen zur Inhalation. Die durch die große Oberfläche bedingten hohen Kohäsionskräfte zwischen den mikronisierten Wirkstoffpartikeln führen zur Bildung von starken Agglomeraten, was eine niedrigere Abscheidungsrate kleinerer Partikel in den Atemwegen zur Folge hat und somit die inhalierbare Fraktion herabsetzt.

Aus diesem Grund gibt es vielfältige Ansätze, um die Kohäsionskräfte zwischen den mikronisierten Wirkstoffpartikeln herabzusetzen. Ein weit verbreiteter Ansatz ist die Herstellung einer interaktiven Pulvermischung, indem ein gröberer Hilfsstoff zum mikronisierten Wirkstoff hinzugesetzt wird, der als Träger für den Wirkstoff dient und somit die Kohäsionskräfte zwischen den Wirkstoffpartikeln herabsetzt. Werden der Träger und der Wirkstoff miteinander gemischt, verteilen sich die mikronisierten Wirkstoffpartikel auf der Oberfläche der groben Trägerpartikel. Dadurch dass die Adhäsionskräfte zwischen Träger und Wirkstoff geringer sind als die Kohäsionskräfte zwischen den reinen Wirkstoffpartikeln sind, lässt sich der Wirkstoff während der Inhalation leichter durch den Luftstrom vom Träger ablösen und kann in die tieferen Regionen der Atemwege gelangen. Aufgrund der Tatsache, dass für die inhalative Therapie bis auf einige Ausnahmen meist nur sehr geringe Dosen des Wirkstoffes angewendet werden, erleichtert die Anfertigung einer solchen binären Pulvermischung zudem die Handhabung des Pulvers und dessen Dosiergenauigkeit (Prime, 1997).

Als Trägermaterialien für Pulverinhalatoren werden zumeist Zucker oder Zuckeralkohole verwendet. Obwohl verschiedenste Träger wie zum Beispiel Mannitol, Sorbitol, Glucose, Maltitol und Xylitol als Trägermaterialien für interaktive Pulvermischungen erfolgreich getestet wurden (Tee et al., 2000, Steckel und Bolzen, 2004), ist der hauptsächlich angewendete Hilfsstoff immer noch das α -Laktose-Monohydrat. Der Hauptgrund für die Verwendung von α -Laktose-Monohydrat besteht darin, dass dieses bereits ein bekannter Hilfsstoff aus anderen Bereichen der pharmazeutischen Technologie, wie der Tablettierung, ist. Daher existiert ein fundiertes Wissen über seine toxikologischen und physiko-chemischen Eigenschaften und seine Stabilität. Zudem ist Laktose in großen Mengen verfügbar und sehr kostengünstig (Telko und Hickey, 2005).

Neben dem reinen Einsatz grober Trägermaterialien gibt es weiterführende Ansätze um die Effektivität von Pulverformulierungen zur Inhalation zu verbessern. So hat sich zum Beispiel gezeigt, dass die Verwendung ternärer Mischungen die inhalierbare Dosis weiter steigern kann (Jones und Price, 2006, Beilmann et al., 2007). Dabei wird dem groben Träger ein weiterer Hilfsstoff in mikronisierter Form zugesetzt. Die daraus folgende erhöhte inhalierbare Fraktion kann über zwei unterschiedliche Mechanismen erklärt werden. Nach Bildung von Agglomeraten aus mikronisiertem Hilfsstoff und Wirkstoff können diese aufgrund ihrer höheren Massen leichter vom Träger gelöst werden. Zum anderen kommt es zur Absättigung von Bereichen hoher energetischer Dichte und Oberflächenkavitäten auf dem groben Träger durch den mikronisierten Hilfsstoff. Die Wirkstoffpartikel sind in der Folge weniger stark auf der Oberfläche des Trägers gebunden und können sich während der Inhalation leichter wieder von diesem ablösen.

Weitere vollkommen andere Ansätze zur Erhöhung der inhalierbaren Fraktion findet man in der Verwendung von Softpellets (Hartmann, 2009) oder der direkten Oberflächenmodifizierung des Wirkstoffes mit Hilfsstoffen, um die kohäsiven Kräfte herabzusetzen (Stank und Steckel, 2013). Der Einsatz von Softpellets und die Oberflächenmodifizierung sind vor allem für Wirkstoffe, die in

hohen Dosen eingesetzt werden müssen, wie zum Beispiel die Antibiotika, von großer Bedeutung, da beim Einsatz hoher Dosen eine Formulierung als binäre oder ternäre Pulvermischung keine Alternative mehr darstellt (Hoppentocht et al., 2014).

2.1.3.1 Interpartikuläre Kräfte

Für die Beurteilung des Deagglomerationsverhaltens von Pulvern ist die Betrachtung der adhäsiven und kohäsiven Eigenschaften von Pulvern und der Möglichkeiten diese zu beeinflussen entscheidend. Steigende adhäsive und kohäsive Kräfte im Pulver können sich in einer erschwerten Deagglomeration des Pulvers während der Inhalation bemerkbar machen. Die resultierenden Adhäsionskräfte in Pulvern sind ein komplexes Zusammenspiel aus unterschiedlichen Kräften. Zu den vier wichtigsten zählen die van-der-Waals-Kräfte, die elektrostatischen Kräfte, die Kapillarkräfte und die mechanischen Kräfte (Telko und Hickey, 2005).

Van-der-Waals-Kräfte sind vor allem bei mikronisierten Teilchen zu finden, die sich in enger Nachbarschaft zueinander befinden und treten auch bei unpolaren Molekülen auf. Sie lassen sich in drei Gruppen von Kräften unterteilen, die Debye-Induktionskräfte, die Keesom-Orientierungskräfte und die Dispersionskräfte. Die Induktions- und die Orientierungskräfte sind die charakteristischen Kräfte für Moleküle, die ein Dipolmoment aufweisen. Wenn von den van-der-Waals-Kräften die Rede ist, sind oft nur die Dispersionskräfte gemeint, da das Ausmaß dieser das der anderen beiden Kräfte in der Regel übersteigt (Podzeck, 1998). Die Elektronen in den Molekülen sind in andauernder Bewegung, können sich aber nur in gewissen Grenzen bewegen. Sobald auf der einen Seite des Moleküls ein Elektronenüberschuss und dementsprechend auf der anderen Seite ein Elektronenmangel entsteht, weist das Molekül einen Dipol auf. Nähert sich ein solches mit einem Dipol versehenes Teilchen einem benachbarten Teilchen, wird die Seite mit dem Elektronenüberschuss die Elektronen des Nachbarpartikels auf die gegenüberliegende Seite schieben, so dass auch im benachbarten Teilchen ein

Dipolmoment induziert wird. Treffen zwei solch geladene Teilchen mit negativ und positiv geladener Seite aufeinander, kommt es zur Anziehung zwischen den beiden Teilchen, was deren anschließende Separation erschwert.

Beeinflussbar sind die van-der-Waals-Kräfte durch Veränderung der Abstände zwischen den einzelnen Teilchen. Dies kann in einer Pulvermischung nur geschehen, wenn die Oberflächenstruktur der Teilchen verändert wird. Durch erhöhte Oberflächenrauigkeit kann sich der Abstand zwischen zwei Teilchen vergrößern, so dass auch die Höhe der van-der-Waals-Kräfte abnimmt. Man geht davon aus, dass die van-der-Waals-Kräfte bei einem Partikelabstand von größer 1 μm aufgehoben sind (Pilcer et al., 2012).

Elektrostatische Kräfte entstehen im Allgemeinen, wenn unterschiedliche Oberflächen miteinander in Kontakt gebracht und anschließend wieder voneinander entfernt werden. Durch Ladungstransfer zwischen den beiden Oberflächen sind die Oberflächen anschließend entgegengesetzt geladen. Ein besonderer Fall der elektrostatischen Ladung von Partikeln ist die Reibungselektrizität. Sie entsteht, wenn sich Partikel während eines Prozesses durch Reibung elektrostatisch aufladen. Diese spielt bei Pulverinhalatoren eine wichtige Rolle, da elektrostatische Ladungen durch Reibung zum Beispiel beim Mischen und Abfüllen von Pulvern aber auch während des Inhalationsvorganges selbst in das Pulver eingebracht werden können (Karner und Urbanetz, 2011).

Die auf der anderen Seite auftretenden Kapillarkräfte in Pulvern, die mit zunehmender Feuchtigkeit ansteigen, liegen darin begründet, dass es in Anwesenheit von Feuchtigkeit zu einem konkav geformten Flüssigkeitsmeniskus zwischen zwei eng genug benachbarten Partikeln im Pulver kommt. Zur Ausbildung eines solchen Flüssigkeitsmeniskus kommt es im Falle von Wasser vor allem zwischen zwei hydrophilen Partikeln. Die Ausbildung solcher Flüssigkeitsmenisken erschwert die Separation der Partikel. Sobald es zur Ausbildung von Kapillarkräften kommt, ist der Druck der Flüssigkeit geringer als der Druck der umgebenden Luft, was zu dem zu beobachtenden konkav geformten Flüssigkeitsmeniskus führt (Colbeck, 1996). Außerdem sorgt alleine

die Oberflächenspannung der Flüssigkeit gegenüber der Umgebung zu einem festeren Zusammenhalt der Partikel (Butt und Kappl, 2009).

An letzter Stelle sind noch die erwähnten mechanischen Kräfte zu nennen. Hierunter versteht man Kräfte, die zumeist durch mechanische Verzahnung von Partikeln entstehen. Unebene Oberflächen der einzelnen Partikel haben zur Folge, dass diese sich ineinander verhaken, die Separation der Partikel anschließend erschwert wird und es zu einer verschlechterten Deagglomeration während der Inhalation des Pulvers kommt.

Die Höhe dieser unterschiedlichen Kräfte kann durch die äußeren Bedingungen wie zum Beispiel Temperatur und Feuchtigkeit beeinflusst werden. Zusätzlich beeinflussen die Eigenschaften des Pulvers an sich, wie zum Beispiel die Partikelgröße, die Oberflächenstruktur und die Oberflächenenergie die adhäsiven und kohäsiven Kräfte in unterschiedlichem Ausmaß.

2.1.3.2 Amorphe Anteile in Pulvern zur Inhalation

Eine Veränderung des Kristallinitätsgrades und eine dementsprechende Ausbildung amorpher Bereiche können sowohl die Hilfsstoffe als auch den Wirkstoff in pharmazeutischen Formulierungen betreffen. Solche Defekte in der Kristallgitterstruktur können bei der Prozessierung der Pulver eingebracht werden. Dies kann sowohl bei der Herstellung der Hilfs- oder Wirkstoffe als auch bei der Anfertigung der interaktiven Pulvermischungen geschehen. Durch Prozesse wie Sprühtrocknung (Lloyd et al., 1996), Gefriertrocknung (Kim et al., 1998), Mahlung (Willart et al., 2010) und Siebung, die bei der Prozessierung von Wirk- und Hilfsstoffen eine entscheidende Rolle spielen, können amorphe Bereiche eingebracht werden. Bei der Sprühtrocknung und der Gefriertrocknung entstehen die amorphen Strukturen aufgrund des sehr schnellen Trocknungsprozesses, wobei die Zeit nicht ausreichend ist, damit sich eine geordnete Kristallgitterstruktur ausbilden kann. Die Anwendung mechanischer Prozesse wie Mahlung und Siebung führt zur Ausbildung von Kristallgitterdefekten in dem anfänglich vollständig kristallin vorliegenden

Material. Hierbei beruht die Ausbildung amorpher Bereiche auf den hohen mechanischen Kräften, die auf die Partikel einwirken und in der Folge zur Zerstörung des Kristallgitters führen.

Da auch beim Mischen Energie in das Pulver eingebracht wird, müssen amorphe Anteile in Inhalationspulvern nicht zwangsläufig aus dem Herstellungsprozess der beteiligten Hilfs- und Wirkstoffe herrühren. Vielmehr können diese auch noch durch anschließende Misch- und Siebprozesse eingebracht werden. Ob beim Mischprozess amorphe Anteile entstehen und in welcher Höhe, hängt von der eingebrachten Energie und damit auch vom verwendeten Mischertyp und den Mischparametern ab.

Der amorphe Zustand an sich ist metastabil. Dies hat zur Folge, dass die amorphen Strukturen mit der Zeit in den kristallinen Zustand übergehen. Wie schnell die Rekristallisation amorpher Feststoffe stattfindet, hängt von der Umgebungstemperatur und -feuchtigkeit ab. Amorphe Substanzen weisen im Gegensatz zu kristallinen Materialien keinen klar definierten Schmelzpunkt, sondern einen Glasübergangspunkt auf. Die Höhe der Glasübergangstemperatur ist charakteristisch für ein bestimmtes Material, hängt aber auch entscheidend von der die Probe umgebenden Feuchtigkeit ab (Makower und Dye, 1956). Mit steigender Feuchtigkeit sinkt die zur Rekristallisation benötigte Temperatur (Burnett et al., 2004). So ist es möglich, dass die Glasübergangstemperatur unter die Umgebungstemperatur absinkt, wodurch es zu einer spontanen Rekristallisation des Materials kommt. Die genaue Glasübergangstemperatur einer Substanz bei einer bestimmten Feuchte kann mit Hilfe der Gordon-Taylor-Gleichung berechnet werden. In Kapitel 3.1.3 ist diese Berechnung der Glasübergangstemperatur für amorphe Laktose exemplarisch dargestellt.

Da das amorphe Material im Vergleich zu seiner kristallinen Form eine erhöhte Hygroskopizität aufweist, wird bei konstanter Umgebungsfeuchte Wasser vom schon rekristallisierten Anteil des Materials auf das amorphe Material übertragen. Dies führt dazu, dass nach begonnener Rekristallisation die Geschwindigkeit, mit der diese abläuft, immer weiter zunimmt (Roos und Karel, 1992).

Ein genaues Verständnis des Rekristallisationsverhaltens von pharmazeutischen Wirk- und Hilfsstoffen ist von großer Bedeutung, da die Rekristallisation amorpher Materialien entscheidende Veränderungen der Materialien mit sich bringen kann. Dies kann sich in der Folge auch auf die Stabilität und die Eigenschaften pharmazeutischer Formulierungen auswirken.

3 Materialien

3.1 Laktose

3.1.1 Allgemeines

Laktose ist das bedeutsamste Kohlenhydrat in der Milch. Der Anteil an Laktose in der Milch kann leicht variieren, unterliegt aber in der Regel keinen allzu großen Schwankungen und macht im Durchschnitt einen Anteil von 4,7% aus. Die Löslichkeit von Laktose in wässriger Lösung ist mit ca. 22 g Laktose pro 100 g Wasser geringer als für die meisten anderen Zucker (Tölpel, 2004).

Neben der Anwendung in der Lebensmittelindustrie ist Laktose ein vielfach angewandter Hilfsstoff in der pharmazeutischen Technologie, der nicht nur in Pulvern zur Inhalation, sondern auch in zahlreichen anderen Arzneiformen wie Tabletten, Granulaten oder Kapseln angewandt wird.

Chemisch gesehen ist die Laktose ein Disaccharid, welches aus den Monosacchariden Galaktose und Glukose zusammengesetzt ist. Laktose kann in zwei unterschiedlichen isomeren Formen, der α -Laktose und der β -Laktose (Abbildung 3.1-1), auftreten. Die α -Laktose unterscheidet sich von der β -Laktose in der durch die Ringbildung hervorgerufenen unterschiedlichen Stellung der Hydroxylgruppe am C₁-Atom des Glukosemoleküls.

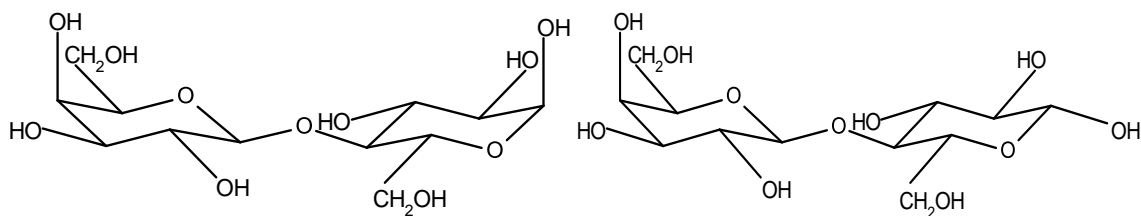


Abbildung 3.1-1: Strukturformel der Laktose (links: α -Laktose, rechts: β -Laktose)

In wässriger Lösung kommt es zur Mutarotation der Laktose. Nach Einstellung des Mutarorationsgleichgewichtes liegen α -Laktose und β -Laktose bei Raumtemperatur im Verhältnis von 38:62 vor.

3.1.2 Kristalline Laktose

Im festen kristallinen Zustand kann Laktose in vier unterschiedlichen Formen vorkommen. β -Laktose liegt ausschließlich in der wasserfreien Form vor. Sie wird durch Kristallisation bei Temperaturen oberhalb von 93°C hergestellt. Die α -Laktose liegt meist in der Form des α -Laktose-Monohydrats vor und entsteht bei Kristallisationstemperaturen von unter 93°C. Aus dem α -Laktose-Monohydrat kann die wasserfreie Form der α -Laktose gewonnen werden. Wird das α -Laktose-Monohydrat auf 100-130°C erhitzt, bildet sich die so genannte instabile wasserfreie α -Laktose. Wird das α -Laktose-Monohydrat hingegen auf über 130°C erhitzt bildet sich die stabile Form der wasserfreien Laktose aus. Alle Formen der kristallinen Laktose zeichnen sich durch eine sehr geringe Hygroskopizität aus (Lerk, 1987).

Als kristallines α -Laktose-Monohydrat fanden in dieser Arbeit Inhalac 230 (Meggler GmbH & Co. KG, Wasserburg, Deutschland) und Lactohale 300 (LH 300) (DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co. KG, Goch, Deutschland) Anwendung.

3.1.3 Amorphe Laktose

Laktose weist im amorphen Zustand einige Unterschiede zur kristallinen Laktose auf. Die Atome in der amorphen Laktose weisen lediglich eine Nahordnung und keine Fernordnung auf. Aufgrund dieser Tatsache ist der amorphe Zustand der Laktose im Vergleich zur kristallinen Laktose thermodynamisch instabil. Dies hat zur Folge, dass die amorphe Laktose wie in Kapitel 2.1.3.2 beschrieben zur Rekristallisation neigt. Der Einfluss der Feuchtigkeit beziehungsweise des Wassergehaltes in der Laktose auf die Glasübergangstemperatur kann mit Hilfe der Gordon-Taylor-Gleichung (Formel 3.1-1) berechnet werden.

$$T_g = \frac{(1-w) \cdot T_{g,Laktose} + k \cdot w \cdot T_{g,H_2O}}{(1-w) + k \cdot w}$$

Formel 3.1-1: Gordon-Taylor-Gleichung

T_g = Glasübergangstemperatur

w = Wasseranteil

k = Konstante mit dem Wert 6,56

Mit Hilfe dieser Gleichung lässt sich berechnen, ab welchem Wassergehalt der Glasübergangspunkt der Laktose auf Raumtemperatur absinkt (Buckton und Darcy, 1996). Die Glasübergangstemperatur der Laktose liegt unter trockenen Bedingungen bei 101°C und kann für reines Wasser theoretisch mit -135°C angenommen werden. Daraus ergibt sich, dass die Glasübergangstemperatur von Laktose bei einem Wassergehalt von 7,25% auf 21°C absinkt.

Für die Lagerung amorpher Laktose ist zu beachten, dass es ab einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 45% zur spontanen Rekristallisation bei Raumtemperatur kommt.

3.2 Budesonid

Budesonid gehört zur Gruppe der Glucocorticoide und wird in der Therapie des Asthma bronchiale und der COPD eingesetzt. Glucocorticoide wirken auf der einen Seite entzündungshemmend, auf der anderen Seite wirken sie der durch den Einsatz von β -Sympathikomimetika hervorgerufenen Verringerung der Anzahl an β -Rezeptoren entgegen, indem sie die Empfindlichkeit der β -Rezeptoren und deren Expression erhöhen. Inhalativ angewandte Glucocorticoide, wie das in dieser Arbeit verwendete Budesonid, zeigen kaum akute, bronchodilatorische Effekte, weshalb sie vorwiegend in der Langzeittherapie eingesetzt werden. Gegenüber den systemisch angewandten Glucocorticoiden bietet die inhalative Verabreichung den Vorteil, dass sie durch ihre gezielte Applikation an den Wirkort in niedrigerer Dosierung eingesetzt

werden können und in der Folge weniger systemische Nebenwirkungen hervorrufen. Die orale Bioverfügbarkeit von Budesonid beträgt nur 10%, so dass auch der bei der Inhalation im Rachen abgeschiedene und verschluckte Anteil kaum zu systemischen Nebenwirkungen führt (Herdegen, 2008, Mutschler et al., 2001).

Budesonid ist aufgrund seiner chemischen Struktur (Abbildung 3.2-1) ein hydrophober Stoff.

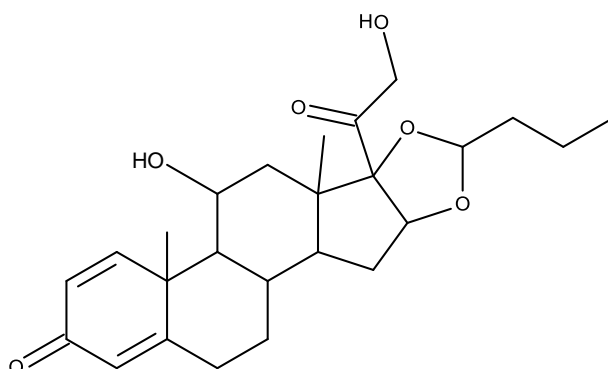


Abbildung 3.2-1: Strukturformel von Budesonid

In dieser Arbeit wurde ausschließlich mikronisiertes Budesonid (x_{10} : $0,75 \pm 0,03 \mu\text{m}$, x_{50} : $2,44 \pm 0,02 \mu\text{m}$, x_{90} : $5,93 \pm 0,25 \mu\text{m}$) der Firma Farmabios SpA (Gropello Cairoli, Italien) verwendet.

3.3 Salbutamolsulfat

Salbutamolsulfat gehört zur Gruppe der ebenfalls in der inhalativen Therapie des Asthma bronchiale eingesetzten β_2 -Sympathomimetika. Sie wirken durch eine Erregung der β_2 -Rezeptoren der Kontraktion der Bronchialmuskulatur entgegen und führen so zu einer Entspannung der Muskulatur der Atemwege.

Die β_2 -Sympathomimetika lassen sich in langwirksame und kurzwirksame Wirkstoffe unterteilen. Die langwirksamen β_2 -Sympathomimetika werden, wie auch die Glucocorticoide, in der Regel nur in der Langzeittherapie des Asthma bronchiale als Basistherapie eingesetzt. Dem gegenüber stehen die

kurzwirksamen β_2 -Sympathomimetika, die mit ihrem sofortigen Wirkeintritt und ihrer kurzen Wirkdauer als Bedarfsmedikation bei Asthma bronchiale im Falle eines akuten Anfalls eingesetzt werden (Herdegen, 2008, Mutschler et al., 2001).

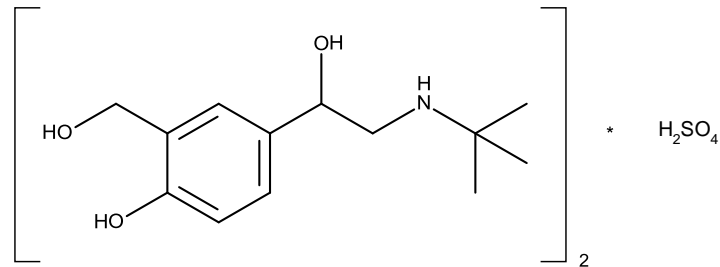


Abbildung 3.3-1: Strukturformel von Salbutamolsulfat

In dieser Arbeit wurde ausschließlich mikronisiertes Salbutamolsulfat verwendet (x_{10} : $0,75 \pm 0,03 \mu\text{m}$, x_{50} : $2,44 \pm 0,02 \mu\text{m}$, x_{90} : $5,93 \pm 0,25 \mu\text{m}$).

4 Methoden

4.1 Methoden zur Amorphisierung von Laktose

4.1.1 Sprühtrocknung

Die Sprühtrocknung von Laktose ist ein gängiges Verfahren zur Herstellung vollständig amorpher Laktose. Während bei der Sprühtrocknung von Laktose aus wässriger Lösung zumeist komplett amorphe Pulver entstehen, weisen Produkte, die aus Suspensionen hergestellt werden, eine höhere Kristallinität auf.

Jawad et al. (2012) konnten bei der Bestimmung des anomeren Verhältnisses mittels H-NMR zeigen, dass die Anteile an α - und β -Laktose in der sprühgetrockneten Laktose dem anomeren Verhältnis in der zu versprühenden wässrigen Lösung entsprechen, wobei sich das Mutarotationsgleichgewicht von Laktose in wässriger Lösung in der Regel nach ca. 4 h, abhängig von Faktoren wie Konzentration und pH-Wert der Lösung, einstellt.

Aufgrund dessen wurde die in dieser Arbeit für die Sprühtrocknung verwendete 15%-ige (m/m) wässrige Lösung von Inhalac 230 jeweils am Vorabend der Sprühtrocknung hergestellt, damit das anomere Verhältnis in der sprühgetrockneten Laktose dem Mutarotationsgleichgewicht in der Lösung entspricht. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass in allen hergestellten sprühgetrockneten Laktosechargen das gleiche Anomerenverhältnis vorliegt. Zudem sollte sich bei trockener Lagerung der sprühgetrockneten Laktose das Anomerenverhältnis nicht weiter verändern, da zwar auch im festen Zustand der amorphen Laktose eine Umwandlung von Teilen der α -Laktose in β -Laktose stattfindet, jedoch auch hier nur bis zur Einstellung des Mutarotationsgleichgewichtes.

Durchgeführt wurde die Sprühtrocknung der wässrigen Laktoselösung in einem Büchi Sprühtrockner B-290 (Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland). Der verwendete Sprühtrockner arbeitet im Gleichstromverfahren, wobei der Luftstrom die gleiche Richtung nimmt wie das zu versprühende Gut. Die

Laktoselösung wurde mit Hilfe einer Zweistoffdüse versprüht, bei der an der Spitze der Düse die Laktoselösung in feinste Tropfen zerstäubt wird, die anschließend im Sprühturm getrocknet werden. Die Abscheidung der getrockneten Laktosepartikel erfolgt durch die Zentrifugalkraft im Zyklon des Sprühtrockners. Die Zulufttemperatur während der Sprühtrocknung betrug 170°C. Die Sprütrate wurde während des Prozesses so reguliert, dass eine Ablufttemperatur von 80°C resultierte. Der Volumenstrom des Aspirators wurde auf 40 m³/h festgesetzt.

4.1.2 Mahlung mit der Planetenkugelmühle

Um komplett amorphe Laktose mittels Mahlung zu erhalten, wurde diese in einer Planetenkugelmühle gemahlen. Die Mahlwirkung kommt hierbei durch die gegenläufige Rotation des Mahlbechers und des Sonnenrades zustande (Abbildung 4.1-1). Die Amorphisierung von Laktose mittels Mahlung ist in der Literatur häufig beschrieben, wobei dort unterschiedlichste Parameter gewählt werden. In den meisten Fällen wurde nicht das α -Laktose-Monohydrat, sondern die wasserfreie Form der α -Laktose verwendet, die aus dem Monohydrat durch Dehydratation mit Hilfe von Methanol, das zuvor durch die Laktose geleitet wird, gewonnen werden kann (Willart et al., 2010, Caron et al., 2011). Die amorphe Laktose in der vorliegenden Arbeit wurde durch direkte Mahlung des α -Laktose-Monohydrats gewonnen, um den apparativen Aufwand möglichst gering zu halten und weitergehende Veränderungen der Laktose zu vermeiden.

Es wurden zwei unterschiedliche Prozesse zur Mahlung der Laktose verwendet, da die zuerst verwendete Mühle nach einiger Zeit defekt war und durch ein neues Gerät ersetzt wurde. Die ersten Chargen gemahlener Laktose wurden mit Hilfe einer Planetenkugelmühle des Typs Fritsch Pulverisette (Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Deutschland) gemahlen. Es wurde eine Mahlkammer mit einem Volumen von ca. 630 cm³ verwendet, in die 20 g des α -Laktose-Monohydrats und 3 Stahlkugeln mit einem Durchmesser von 25,4 mm gegeben wurden. Eine

Mahlung auf höchster Umdrehungsstufe der Mühle (Stufe 3) führte nach 64 h zu einem röntgendiffraktometrisch vollständig amorphen Produkt.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde mit einer Planetenkugelmühle PM 100 (Retsch GmbH, Haan, Deutschland) gearbeitet. Die verwendeten Parameter der Mahlung in der Pulverisette der Firma Fritsch ließen sich nicht ohne weiteres übernehmen. Ein Hauptproblem bestand in der auch bei Descamps et al. (2007) beschriebene Überhitzung des Gutes, so dass alle Mahlprozesse in einem Kühlraum bei maximal 2°C durchgeführt wurden. Die zuvor verwendete Einwaage von 20 g wurde beibehalten und mit 3 Zirkonoxidkugeln mit einem Durchmesser von 30 mm in einer Zirkonoxidmahlkammer mit einem Volumen von 500 cm³ gemahlen. Da auf der einen Seite zu niedrige Umdrehungsgeschwindigkeiten nicht genügend Energie einbrachten um die Laktose zu amorphisieren und auf der anderen Seite zu hohe Umdrehungsgeschwindigkeiten zu einer Überhitzung des Gutes führten, wurde bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 400 rpm gearbeitet. Nach 10 h Mahlung konnte röntgendiffraktometrisch bereits keine Kristallinität mehr nachgewiesen werden. Die Mahldauer für alle folgenden gemahlenen Laktosechargen wurde daher auf 15 h festgesetzt.

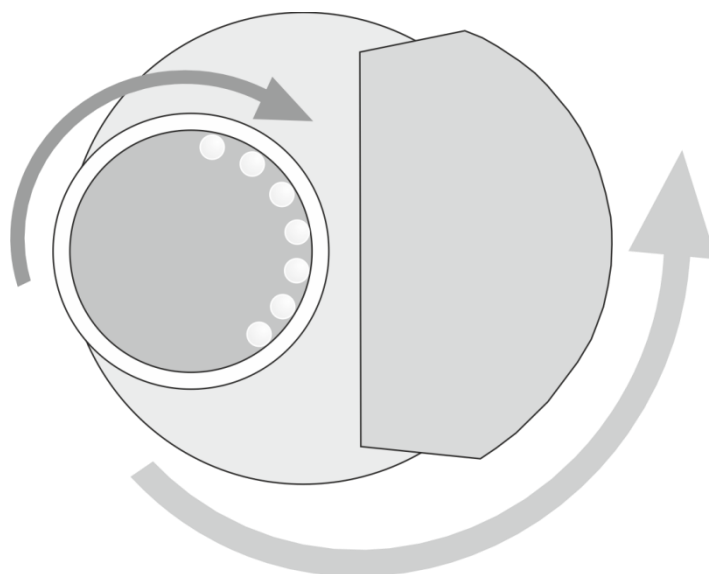


Abbildung 4.1-1: Mahlprinzip der Planetenkugelmühle

4.1.3 Mahlung mit der Luftstrahlmühle

Um gemahlene, amorphe Laktose in mikronisierter Form zu erhalten, wurde die zuvor in der Planetenkugelmühle zur kompletten Amorphisierung gemahlene Laktose mittels Luftstrahlmahlung mikronisiert. Hierfür wurde eine Ovalrohrstrahlmühle (Jet-O-Mizer, Fluid Energy Aljet, Plumsteadville, USA) verwendet. Durch das Zuführen von Stickstoff mit einem Förderdruck von 9 bar wurde die Laktose in die Mahlkammer befördert. Der Mahldruck lag bei 8 bar und damit 1 bar unter dem Förderdruck, um das Herausdrücken der Probe aus der Mahlkammer zu verhindern. In der Mahlkammer selber bewegt sich die Laktose je nach Partikelgröße auf unterschiedlichen Bahnen und wird durch Prall- und Reibungskräfte zerkleinert. Sobald eine bestimmte Partikelgröße unterschritten wird, können die Partikel die Mahlkammer verlassen und gelangen in einen Auffangbeutel, der am Auslass der Mahlkammer angebracht ist. Durch röntgendiffraktometrische Messungen wurde sichergestellt, dass die Laktose auch im Anschluss an die Luftstrahlmahlung vollständig amorph war.

4.2 Methoden zur Herstellung von Pulvermischungen

4.2.1 Bestimmung der Restfeuchte

Vor der Herstellung von Pulvermischungen aus amorpher und kristalliner Laktose wurde die Restfeuchte sowohl der amorphen als auch der kristallinen Laktosen mit Hilfe eines Feuchtemessgerätes (Modell MA 45, Sartorius, Göttingen, Deutschland) bestimmt. Dazu wurden 1-2 g der Laktose, genau gewogen, auf das Schälchen der Waage gegeben. Mit dem Start der Messung wurde das Pulver auf 105°C aufgeheizt, so dass anhaftendes Wasser in der Probe entfernt wurde. Aus der Anfangs- und der Endmasse lässt sich über Formel 4.2-1 die Restfeuchte in der Probe berechnen.

$$RF, \% = \frac{m_f - m_t}{m_t} * 100\%$$

Formel 4.2-1: Formel zur Berechnung der Restfeuchte

RF = Restfeuchte

m_f = Feuchtmasse (Ausgangsmasse)

m_t = Trockenmassen (Endmasse)

4.2.2 Herstellung von Mischungen aus kristalliner und amorpher

Laktose

Um Laktosechargen mit unterschiedlichen, aber bekannten amorphen Anteilen zu erhalten, wurden definierte Anteile an amorpher Laktose mit kristallinem Inhalac 230 gemischt. Für die Berechnung der Einwaage beider Komponenten wurde zuerst die Restfeuchte (s. Kapitel 4.2.1) der Einzelkomponenten bestimmt und die jeweiligen Einwaagen um diesen Betrag korrigiert. Die Einzelkomponenten wurden gesiebt (180 µm), im Sandwichverfahren eingewogen und im Turbulamischer (Type T2C, Bachofen AG, Uster, Schweiz) für 30 min gemischt, wobei die Mischungen jeweils nach 15 und nach 30 min erneut gesiebt wurden (180 µm). Die Mischwirkung des Turbulamischers beruht auf seiner dreidimensionalen Bewegung (Abbildung 4.2-1).

Um eine Rekristallisation des amorphen Materials auszuschließen wurden alle Mischungen in einem klimatisierten Raum bei 21°C und 20% relativer Luftfeuchte durchgeführt. Die Lagerung der hergestellten Pulvermischungen geschah anschließend im Exsikkator bei 0% relativer Feuchte über Phosphorpentoxid um eine Rekristallisation der Proben in der Zeit bis zur Weiterverwendung oder Vermessung zu vermeiden.

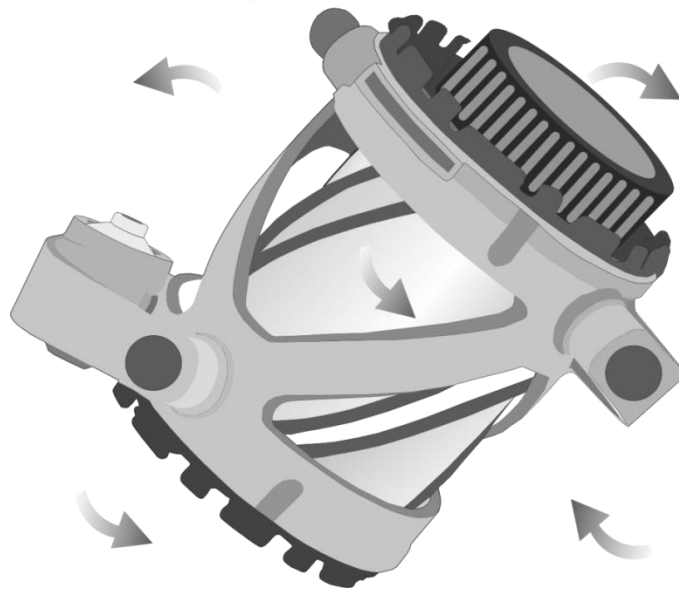


Abbildung 4.2-1: Turbulamischer

4.2.3 Herstellung interaktiver Pulvermischungen

Die interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation wurden ebenso wie die reinen Laktosemischungen im Turbulamischer hergestellt. Als Träger dienten entweder Inhalac 230 oder Vormischungen aus in der Planetenkugelmühle amorphisierter Laktose mit kristallinem Inhalac 230 in unterschiedlichen Konzentrationen. Wenn Vormischungen als Träger für den Arzneistoff verwendet wurden, wurden diese wie in Kapitel 4.2.2 beschrieben hergestellt.

Die Trägerlaktose und der Wirkstoff wurden separat gesiebt ($180\ \mu\text{m}$) und der Wirkstoff im doppelten Sandwichverfahren zur Trägerlaktose gewogen. Die Ansatzgröße betrug in der Regel 25 g. Abweichend davon wurde für interaktive Pulvermischungen mit einem Wirkstoffanteil kleiner 1% die Ansatzgröße auf 100 g erhöht, um die Gefahr inhomogener Mischungen aufgrund der sehr geringen Einwaage an Wirkstoff zu vermeiden. Die Mischdauer betrug 60 min, wobei die Pulvermischungen nach jeweils 15 min einem Siebschritt ($180\ \mu\text{m}$) unterzogen wurden.

4.2.4 Lagerung der interaktiven Pulvermischungen

Alle interaktiven Pulvermischungen wurden direkt nach der Herstellung im Exsikkator über Phosphorpentoxid bei 0% relativer Feuchte gelagert, damit es nicht zur Rekristallisation amorpher Bereiche in den Pulvern kam. Des Weiteren wurden für die Untersuchung des feuchteabhängigen Verhaltens der Pulvermischungen Teile der Probe bei Raumtemperatur im Exsikkator offen in Kruken bei 45% und 75% relativer Feuchte gelagert. Für die Einstellung der Feuchtigkeit wurden gesättigte Salzlösungen von Kaliumcarbonat und Natriumchlorid genutzt.

4.2.5 Bestimmung der Homogenitäten interaktiven Pulvermischungen

Zur Bestimmung der homogenen Verteilung des Wirkstoffes im Pulver wurden an zehn unterschiedlichen Stellen jeder Pulvermischung Proben entnommen. Die Masse der gezogenen Probe orientierte sich dabei an den verwendeten Einzeldosen für die sich anschließende aerodynamische Charakterisierung der Pulver. Proben, die Budesonid enthielten, wurden in einem Gemisch aus Methanol und Aqua bidestillata (75 T + 25 T) gelöst. Enthielten die Proben Salbutamolsulfat als Wirkstoff wurden diese in bidestilliertem Wasser gelöst. Der Wirkstoffgehalt wurde anschließend mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt (siehe Kapitel 4.2.6). Die Pulvermischungen wurden für die weitere Analytik verwendet, wenn die relative Standardabweichung nicht größer als 5% war.

4.2.6 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes der Proben aus der Homogenitätsbestimmung wie auch den NGI-Untersuchungen (4.3.8) geschah mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie. Es wurde jeweils eine externe Kalibriergerade im Konzentrationsbereich von 0,5-100 µg/ml angefertigt. Für beide Arzneistoffe wurde eine RP-18 Säule mit entsprechender Vorsäule

verwendet. Tabelle 4.2-1 gibt einen Überblick über die verwendeten Methoden zur Quantifizierung des Gehaltes an Budesonid beziehungsweise Salbutamolsulfat in den Proben.

	Budesonid	Salbutamolsulfat
Fließmittel	75 T Methanol 25 T Aqua bidest.	85 T Phosphatpuffer pH 3,0 15 T Methanol
Flussrate	1 ml/min	1 ml/min
Wellenlänge	244 nm	224 nm
Injektionsvolumen	50 µl	100 µl

Tabelle 4.2-1: Übersicht über die HPLC-Methoden für Budesonid und Salbutamolsulfat

4.3 Methoden zur Charakterisierung von Laktose und interaktiven Pulvermischungen

4.3.1 Mikrokalorimetrie

Kalorimetrische Messmethoden beruhen auf der Tatsache, dass bei jeder Phasenumwandlung Wärme Flüsse entstehen, die gemessen und aufgezeichnet werden können. Mit der isothermen Mikrokalorimetrie können selbst kleinste Wärme Flüsse detektiert und gemessen werden.

In dieser Arbeit wurde die statische Ampullenmessmethode angewandt. Hierbei ist die Probe von einem temperierten Wasserbad umgeben, das einen Wärme flux zwischen der Probe und dem Wasserbad erlaubt. Es wurden ca. 150 mg, abweichend davon für Proben mit einem amorphen Anteil $\leq 10\%$ ca. 300 mg, genau eingewogen und zusammen mit einem kleinen Hygrostaten in eine Glasampulle gegeben. Durch den Hygrostaten stellt sich eine definierte relative Feuchte innerhalb der Ampulle ein. Für die Versuche in dieser Arbeit wurde gesättigte NaCl-Lösung eingesetzt, so dass sich in den Ampullen unter den Versuchsbedingungen von 25°C eine relative Feuchte von 75% einstellte. Um die Zeit zum Angleichen der Temperatur der verwendeten Materialien an die Messtemperatur zu verkürzen, wurden alle verwendeten Materialien zuvor bei

25°C im Trockenschrank gelagert. Zu Beginn der Messung wurde die Ampulle dann 10 min in Equilibrierposition gehalten und anschließend langsam in die Messkammer abgesenkt, in der sie von einem temperierten Wasserbad umgeben ist. Treten in der Probe Umwandlungen auf, die zu einem endothermen oder exothermen Ereignis führen, findet ein messbarer Wärmeaustausch zwischen Probe und Wasserbad statt. Im Falle der amorphen Laktose führt die durch den Hygrostaten in der Ampulle eingestellte relative Feuchtigkeit von 75% zur Rekristallisation, die als exotherme Umwandlung über den entstehenden Wärmefluss zwischen Wasserbad und Probe gemessen werden kann. Parallel dazu wird in einem zweiten Messkanal eine Leerampulle vermessen, um Einflüsse aus der Umgebung auf den Wärmefluss aus dem Ergebnis der Probe herausrechnen zu können.

Die erhaltenen Peakflächen wurden mit Hilfe der Software Origin Pro 7G (OriginLab Corporation, Northampton, USA) ausgewertet. Dazu wurde die Basislinie auf null gesetzt und anschließend die Peakfläche integriert. Durch Division der Peakfläche durch die Einwaage wurde der amorphe Anteil in der jeweiligen Probe kalkuliert.

4.3.2 Dynamische Wasserdampfsorption

Die Verwendung der dynamischen Wasserdampfsorption (dynamic vapor sorption, DVS) zur Quantifizierung von amorphen Anteilen ist ein vielfach angewandtes Verfahren. Unter zumeist isothermen Bedingungen wird die Probe nacheinander unterschiedlicher relativer Feuchte ausgesetzt. Dies geschieht durch das Mischen eines trockenen und eines feuchten Stickstoffstroms in einem definierten Verhältnis zueinander. Die Masseänderung der Probe wird gleichzeitig aufgezeichnet (Abbildung 4.3-1).

In dieser Arbeit wurde für die Quantifizierung amorpher Anteile eine vergleichsweise neue Methode angewandt, bei der amorphe Anteile über die Erstellung von Adsorptionsisothermen kalkuliert werden. Die Grundlage hierfür bildet die Tatsache, dass unterhalb der Feuchtigkeit, bei der amorphe Laktose zu

rekristallisieren beginnt, die kristalline Laktose ein wesentlich geringeres Wasseraufnahmevermögen zeigt als die amorphe Laktose (Bronlund und Paterson, 2004). Die Eignung dieses Ansatzes der Verwendung von Adsorptionsisothermen zur Kalkulation des amorphen Anteils und dessen Unterschied zur gravimetrischen, auf der Rekristallisation basierten DVS-Messung ist erstmals bei Vollenbroek et al. (2010) beschrieben.

Die Messungen wurden in einer DVS-HT (Surface Measurement Systems, London, Großbritannien) durchgeführt. Das Gerät arbeitet mit einem Probenkarussell, das die zeitgleiche Vermessung von bis zu 10 Proben erlaubt. Nach Einwaage der Proben in die Pfännchen wurden sie für 20 h bei 0% relativer Feuchtigkeit im Stickstoffstrom getrocknet. Anschließend wurde relative Feuchte stufenweise auf Werte von 3%, 5%, 7,5%, 10%, 15%, 20%, 30%, und 40% erhöht. Höhere Feuchtigkeitswerte wurden nicht verwendet, da es hierbei zur Rekristallisation der amorphen Laktose gekommen wäre. Jede der gewählten Feuchtigkeitsstufen wurde gehalten bis die Massenänderung pro Zeiteinheit (dm/dt) der letzten der zehn Proben kleiner als 0,0005% war beziehungsweise für einen maximalen Zeitraum von 27 h. Da bei der Verwendung von 10 Proben 25 min zwischen zwei Datenpunkten für eine Probe liegen und dm/dt über fünf Datenpunkte kalkuliert wurde, betrug die minimal mögliche Dauer pro Feuchtigkeitsstufe 125 min. Zur Kalkulation des amorphen Anteils sind bei Verwendung von Adsorptionsisothermen generell zwei unterschiedliche Auswertungsansätze möglich. Auf der einen Seite kann die Kalkulation über die Massenzunahme bei einer bestimmten Feuchtigkeitsstufe geschehen. Eine weitere Möglichkeit ist die Auswertung über die Berechnung des Feuchtigkeitsgehaltes der während der Wasseradsorption gebildeten monomolekularen Schicht auf der Probe. Diese Kalkulation ist mit Hilfe der BET-Gleichung möglich. Auf die genaueren Unterschiede zwischen diesen beiden Auswertungsverfahren wird in Kapitel 5.3 näher eingegangen.

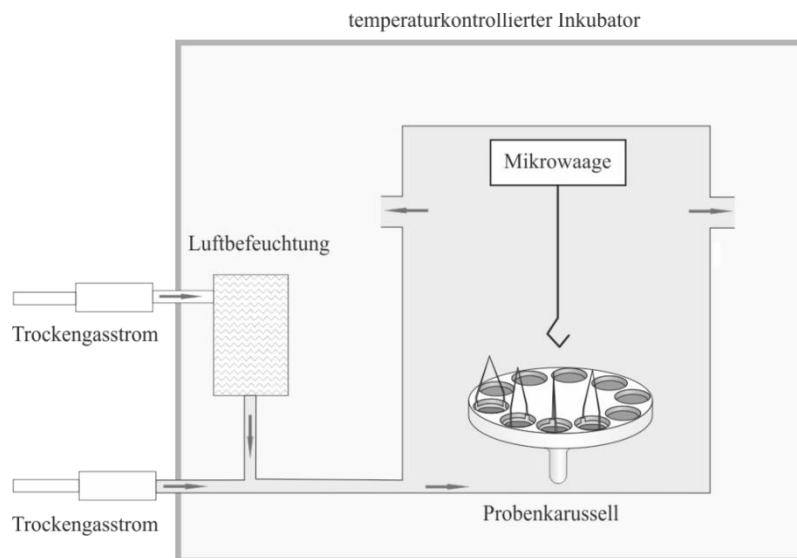


Abbildung 4.3-1: Funktionsprinzip der dynamischen Wasserdampfsorption

4.3.3 Röntgendiffraktometrie

Bei der Analytik der Kristallstruktur mit Hilfe von Röntgenstrahlen, macht man sich die Beugung von Röntgenstrahlen an kristallinen Materialien zu Nutze. Im Vergleich zum sichtbaren Licht sind Röntgenstrahlen aufgrund ihrer deutlich kürzeren Wellenlänge wesentlich energiereicher. Zwischen Anode und Kathode werden die Elektronen mittels Hochspannung beschleunigt. Durch die auf der Anode auftreffenden Elektronen wird die Röntgenstrahlung erzeugt. Trifft die Röntgenstrahlung auf einen Kristall, werden die Atome des Kristalls zur Schwingung angeregt und geben infolgedessen selbst Strahlung definierter Wellenlänge, die so genannte Sekundärstrahlung, ab. Diese Sekundärstrahlen interferieren miteinander und ergeben das typische Röntgendiffraktogramm. Die Unterscheidung zwischen kristallinen und amorphen Materialien ist mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie möglich, da amorphe Substanzen nur eine diffuse Streuung, das so genannte Halo-Signal, zeigen (Storey und Ymén, 2011).

In dieser Arbeit wurde ein Stoe Röntgendiffraktometer (Stoe und Cie GmbH, Darmstadt, Deutschland) verwendet. Für die Messung wurde $\text{CuK}\alpha_1$ -Strahlung mit einer Stromstärke von 30 mA und einer Beschleunigungsspannung von 40 kV emittiert.

4.3.4 Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels

Stickstoffadsorption

Zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche der Laktose wurde das Verfahren der Stickstoffadsorption angewandt (Ph. Eur. 2.9.26). Hierbei liegt der Kalkulation der Oberfläche die Gleichung nach Brunner, Emmett und Teller zugrunde (s. Kapitel 5.3.1). Die Oberfläche wird aus dem Volumen an Stickstoff ermittelt, das in monomolekularer Schicht auf der Probe gebunden ist. Je größer die Oberfläche der Probe, desto höher ist das auf ihr in monomolekularer Schicht gebundene Stickstoffvolumen.

Für die Bestimmung der spezifischen Oberfläche wurde in der NOVA 2200 (Quantachrome Instruments, Bynton Beach, USA) eine 11-Punkt-Messung im Partialdruckbereich von 0,05 bis 0,30 durchgeführt. Die Equilibrierzeit wurde auf 120 s festgesetzt und die maximale Haltedauer eines jeden Partialdruckes betrug 600 s. Zur Vorbereitung der Proben vor der eigentlichen Messung wurden diese für 16 h bei Raumtemperatur unter Vakuum konditioniert, um auf der Probe anhaftende Verunreinigungen zu entfernen.

4.3.5 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mittels

Laserdiffraktometrie

Bei der Partikelgrößenbestimmung mit Hilfe der Laserdiffraktometrie können Partikelgrößen im Größenbereich von 0,1 μm bis 8750 μm analysiert werden. Laserlicht zeichnet sich dadurch aus, dass die emittierten Photonen alle die gleiche Wellenlänge aufweisen und somit sehr intensives monochromatisches Licht vorliegt. Für die Partikelgrößenbestimmung in dieser Arbeit wurde ein Helium-Neon Laser eingesetzt, der Licht mit einer Wellenlänge von 633 nm erzeugt. Das Prinzip der Laserdiffraktometrie beruht darauf, dass Partikel von unterschiedlicher Größe das Licht unterschiedlich stark beugen. Die Größe des Beugungswinkels ist dabei umgekehrt proportional zur Partikelgröße. Bei Vorliegen mehrerer Partikelgrößen, was in Pulvern meist der Fall ist, kommt es

zur Interferenz, also zur Überlagerung der unterschiedlichen Beugungsmuster. Ausgewertet wurden die Daten basierend auf der Fraunhofer-Theorie mit Hilfe der Windox Software (Version 5.4.2.2, Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland)

Die Bestimmung der Partikelgröße in dieser Arbeit wurde mit dem HELOS (Helium-Neon Laser Optisches System) und dem RODOS-Modul (Sympathec GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) durchgeführt. Das Pulver wurde mittels Druckluftstoß bei 3 bar aufgegeben. Nach Aufgabe des Pulvers startete die Messung, wenn eine optische Konzentration von 0,2% erreicht wurde und stoppte automatisch, wenn die optische Konzentration zum Ende der Messung wieder unter 0,2% fiel.

4.3.6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden in der Regel mit einem Smart SEMTM Supra 55VP Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) gemacht. Abweichend hiervon wurden einige wenige Aufnahmen mit einem Zeiss DSM 940 Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss GmbH, Oberkochen, Deutschland) aufgenommen.

Zuvor wurde die Probe auf einem mit einer leitfähigen Folienscheibe präpariertem Aluminiumträger fixiert und unter Argonatmosphäre in einem Sputter-Coater (SCD 005, Bal-Tec AG, Vaduz, Liechtenstein) bei 50 mA und 100 s zur Erhöhung der Leitfähigkeit mit Gold bedampft. Für die Bildgebung wurde der Elektronenstrahl mit einer Spannung von 2 bis 5 kV beschleunigt.

4.3.7 Bestimmung des anomeren Verhältnisses mittels Kernspinresonanzspektroskopie

Zur Bestimmung des anomeren Verhältnisses in der Laktose wurden Messungen mittels Wasserstoff-Kernspinresonanzspektroskopie (hydrogen-nuclear magnetic resonance, H-NMR) durchgeführt. Die Messungen wurden in einem Kernspinresonanzspektrometer Bruker Avance III (Bruker Corporation, Billerica, USA) durchgeführt. Die generelle Eignung dieser Analytik zur Bestimmung des Verhältnisses von α - zu β -Laktose ist bei Jawad et al. (2012) beschrieben. Die Analytik beruht darauf, dass die Abschirmung des Protons am C₁-Atom der β -Laktose geringer ist als bei der α -Laktose. Dies liegt darin begründet, dass bei der β -Laktose der Abstand des Protons am C₁-Atom zu den benachbarten Sauerstoffgruppen kleiner ist als bei der α -Laktose und somit der Einfluss der Elektronegativität der Sauerstoffgruppen auf das Proton am C₁-Atom größer ist, was dort zu einer verringerten Elektronendichte führt. Durch die geringere Abschirmung liegt die entsprechende chemische Verschiebung für die β -Laktose bei 6,6 ppm, während sie für die α -Laktose bei nur 6,3 ppm liegt.

Von den zu vermessenden Proben wurden jeweils ca. 3 mg in 550 μ l Dimethylsulfoxid-d₆ 99,6% (DMSO-d₆) gelöst. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass eine Mutarotation der Laktose, die in wässriger Lösung beobachtet werden kann, auch in DMSO zu beobachten ist. Allerdings konnte eine beginnende Mutarotation hier erst 30 min nach dem Lösen in DMSO festgestellt werden, so dass die Proben jeweils direkt vor der Vermessung gelöst und anschließend zügig vermessen wurden, um auszuschließen, dass es über den Zeitraum der Messung zur Mutarotation und somit zu einem verfälschten Ergebnis kam. Da dem verwendeten DMSO-d₆ kein separater Standard zugesetzt war, wurde das DMSO-d₅-Signal bei 2.50 ppm als interner Standard verwendet. Die Messungen wurden unter isothermen Bedingungen bei 298 K durchgeführt. Die Spektren wurden mit Hilfe der Software Bruker Topspin (Bruker Corporation, Billerica, USA) ausgewertet. Die Peakflächen wurden integriert, der Peak für die

β -Laktose auf 1 festgesetzt und das Verhältnis vom β -Laktose-Peak zum α -Laktose-Peak berechnet.

4.3.8 Charakterisierung des aerodynamischen Verhaltens von interaktiven Pulvermischungen

Zu den drei wichtigsten Mechanismen, auf denen die Abscheidung von Partikeln in der Lunge beruht, zählen die Impaktion, die Sedimentation und die Diffusion (Urbanetz, 2006).

Impaktion liegt vor, wenn die Teilchen dem Verlauf des Luftstroms nicht mehr folgen können und infolgedessen abgeschieden werden. In welchem Abschnitt der Lunge die Partikel abgeschieden werden, hängt unter anderem von der Größe der Teilchen ab. Größere Partikel werden aufgrund höherer Trägheitskräfte früher abgeschieden, wohingegen kleinere Partikel länger in der Lage sind dem Luftstrom zu folgen und somit erst in den tieferen Regionen der Lunge abgeschieden werden. Außerdem sind neben der Partikelgröße auch die Partikelform, die Dichte des Partikels und die Geschwindigkeit der Luft von Bedeutung.

Wie die Impaktion hängt auch Sedimentation der Teilchen, die durch das Stokesche Gesetz beschrieben wird, von der Teilchengröße und deren Dichte ab. Je größer die Partikel und je höher die Dichte, desto schneller sedimentieren sie und werden abgeschieden.

Die Diffusion von Partikel hängt damit zusammen, dass Partikel mit einem Durchmesser kleiner 1 μm der Brownschen Molekularbewegung durch die umgebenden Gasmoleküle unterliegen. Der Einfluss der durch Diffusion abgeschiedenen Partikel ist hierbei umso größer je kleiner die Partikel sind. Sehr kleine Teilchen werden zum Teil aber gar nicht erst in den Atemwegen abgeschieden, sondern werden wieder mit ausgeatmet.

Zur Beurteilung des aerodynamischen Verhaltens der interaktiven Pulvermischungen wurde in dieser Arbeit eine Impaktionsanalyse mit dem Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) (Copley Scientific Limited,

Nottingham, Großbritannien) durchgeführt. Hierbei macht man sich das beschriebene Prinzip der schnelleren Impaktion von größeren im Gegensatz zu kleineren Teilchen zu Nutze. Der NGI ist ein Kaskadenimpaktor mit sieben Abscheidestufen und einem Mikroöffnungskollektor (Abbildung 4.3-2).

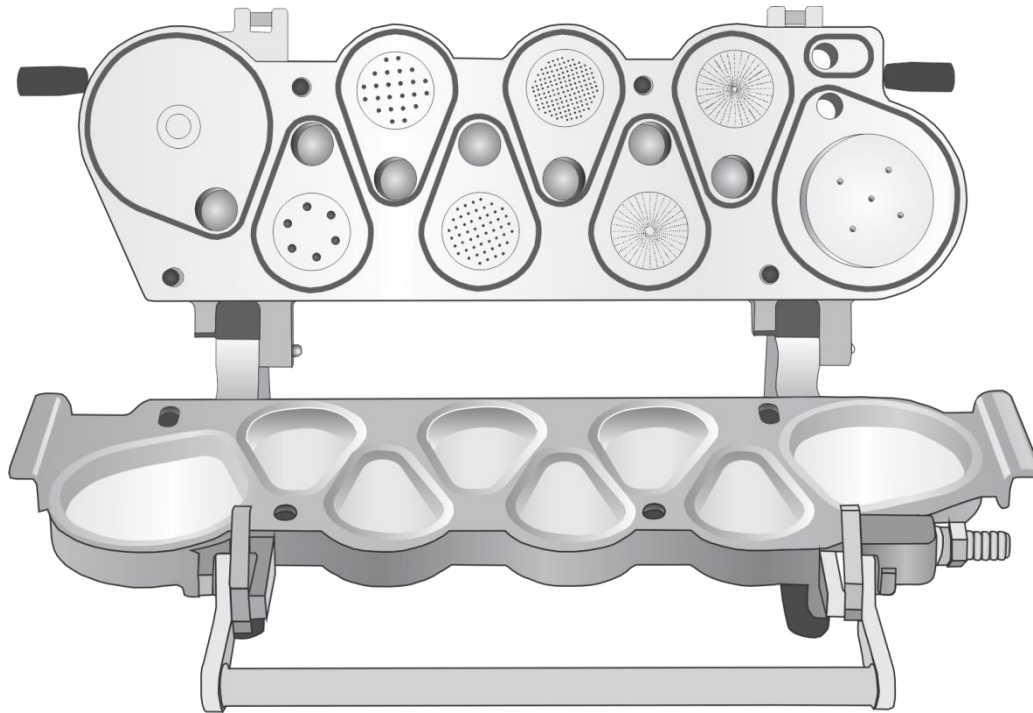


Abbildung 4.3-2: NGI im geöffneten Zustand

In Richtung des Luftstroms werden die über den Schälchen liegenden Düsen im Durchmesser immer kleiner, so dass eine Auftrennung der Teilchen nach ihrem aerodynamischen Durchmesser geschieht. Da in dieser Arbeit ausschließlich Inhalationspulver verwendet wurden, die neben dem mikronisierten Wirkstoff grobe Trägerlaktose enthielten, wurde zwischen dem Rachen und der ersten Abscheidestufe ein Vorabscheider eingesetzt. Hierauf wird ein Großteil der groben Trägerlaktose abgeschieden.

Auf die Prallplatte des Vorabscheiders und die 8 Pfännchen der Abscheidestufen wurde eine Mischung aus Brij 35 (15 T), Ethanol (51 T) und Glycerol (34 T) aufgetragen. Zur Aufgabe des Pulvers wurde ein Modellaufgabesystem verwendet (Abbildung 4.3-3), das einen sehr geringen Widerstand hat und dadurch im

Gegensatz zu auf dem Markt befindlichen Inhalatoren kaum einen aktiven Einfluss auf die Deagglomeration der Pulver ausübt.

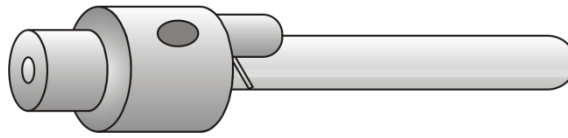


Abbildung 4.3-3: Modellaufgabesystem

Das Europäische Arzneibuch schreibt in der Monographie „Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen“ (2.9.18) für die Impaktionsanalyse einen Druckabfall von 4,0 kPa vor, woraus für das verwendete Aufgabesystem eine Flussrate von 80 l/min resultierte. Aus der Flussrate ergab sich unter der ebenso geforderten Bedingung eines Luftvolumens von insgesamt 4 Litern eine Messzeit von 3,0 s. Um den Wirkstoff hinreichend quantifizieren zu können wurden je nach Wirkstoffgehalt der Pulver bis zu 10 Einzeldosen aufgegeben. Enthielten die Proben Budesonid als Wirkstoff wurde zum Lösen des Pulvers nach erfolgter Abscheidung eine Mischung aus Methanol (75 T) und bidestilliertem Wasser (25 T) verwendet. Für die Pulver, die Salbutamolsulfat enthielten, wurde bidestilliertes Wasser zum Lösen verwendet. Dafür wurden auf die 8 Abscheideschälchen jeweils 5 ml des Lösungsmittels gegeben. Das Aufgabesystem wurde mit 10 ml, der Rachen mit 20 ml und der Vorabscheider mit 25 ml ausgewaschen. Der Arzneistoff wurde anschließend mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie quantifiziert. Zur Beschreibung der verwendeten HPLC-Methode siehe Kapitel 4.2.6. Die Auswertung wurde mit der Software CITDAS 3.0 (Copley Scientific Limited, Nottingham, Großbritannien) durchgeführt.

Wie die Herstellung der Pulvermischungen wurden auch die Impaktionsanalysen in einem klimatisierten Raum bei 21°C und 20% relativer Feuchte durchgeführt.

4.3.9 Pulverrheologie

Das dynamische Fließverhalten von Pulvermischungen wurde mit einem FT4 Powder Rheometer (Freeman Technology, Tewkesbury, Großbritannien) untersucht. Die Mischungen wurden dafür in ein Borosilikat-Testgefäß mit 25 mm Durchmesser gefüllt, welches nach der initialen Pulverkonditionierung auf ein Volumen von exakt 25 ml geteilt wurde. Mit Hilfe der im Gerät verbauten Waage und dem definierten Volumen des Testgefäßes kann das konditionierte Bulkvolumen (conditioned bulk density (CBD), g/ml) der Proben ermittelt werden. Nun wird die Energie aufgezeichnet, die ein gebogenes Blatt mit 23,5 mm Durchmesser benötigt, um abwärts das Testgefäß zu durchlaufen. Die gemessene Energie (mJ) wird als „basic flowability energy“ (BFE) bezeichnet. Analog dazu wird die Energie während der Aufwärtsbewegung des Blattes erfasst und auf die Einwaage bezogen als „specific energy“ (SE) in mJ/g angegeben.

Es wurde das Standard REP+VFR Testprogramm verwendet, bei dem anfänglich 7 identische Test- und Konditionierungszyklen ausgeführt werden. Durch Division der BFE von Test 1 durch die von Test 7 wird der Stabilitätsindex (SI) erhalten, der als Maß für die Stabilität der Proben während der Messung dient und möglichst nahe an 1 liegen sollte. Anschließend folgen 4 weitere Testzyklen, bei denen die Rotationsgeschwindigkeit des Blattes stufenweise von 100 mm/s auf 10 mm/s reduziert wird. Hierüber lässt sich gegebenenfalls eine unterschiedliche Reaktion der Proben auf die Verminderung der Rotationsgeschwindigkeit feststellen.

In einem weiteren Test („Aeration Test“) wurden die Veränderungen der messbaren Energien bei verschiedenen Luftdurchsätzen durch die Proben ermittelt. Dazu wurden 25 ml Pulver in ein 30 ml Borosilikat-Testgefäß mit 25 mm Durchmesser und luftdurchlässigem Boden gegeben. Es wurde eine Aeration Control Unit (ACU) an den Gefäßboden angeschlossen, der Luftdurchsatz stufenweise von 0 mm/s bis 6 mm/s gesteigert und die benötigte Energie des Blattes während der Abwärtsbewegung gemessen (Cordts, 2014).

4.3.10 Schütt- und Stampfdichte

Schütt- und Stampfdichte wurden mit dem ERWEKA Stampfvolumeter SVM 222 (ERWEKA GmbH, Heusenstamm, Deutschland) bestimmt. Basierend auf den Anforderungen des Europäischen Arzneibuches (Kapitel 2.9.34) wurden 100 g in einen 250 ml-Messzylinder eingewogen und aus dem so ermittelten Volumen die Schüttdichte des Pulvers berechnet. Zur Ermittlung der Stampfdichte wurde der Zylinder 1250 mal gestampft und aus dem danach erhaltenen Volumen die Stampfdichte berechnet.

4.4 Statistische Methoden

Sofern nicht anders angegeben sind bei allen durchgeführten Analytiken die Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen dargestellt. Die Fehlerbalken zeigen dabei jeweils die Standardabweichung.

Zur Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Ergebnissen, wurde der zweiseitige t-Test nach Student durchgeführt. Dem t-Test wurde ein F-Test vorangestellt, um zu überprüfen, ob sich die Varianzen der zu vergleichenden Mittelwerte signifikant voneinander unterscheiden. Bei nicht vorhandenen Unterschieden in den Varianzen wurde ein homoskedastischer t-Test durchgeführt. Unterschieden sich die Varianzen, fand der heteroskedastische t-Test Anwendung. Die Tests wurden mit der Statistikfunktion der Software Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond WA, USA) durchgeführt.

Ein p-Wert von $\leq 0,001$ wurde als hochsignifikant und p-Werte zwischen 0,05 und 0,001 als signifikant angenommen.

Für die statistische Versuchsplanung wurde die Software Design Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA) eingesetzt.

Praktischer Teil

5 Quantifizierung des amorphen Anteils in Laktose

5.1 Einleitung

Die Bestimmung amorpher Anteile in pharmazeutischen Hilfs- und Arzneistoffen, insbesondere auch in dem vielfach eingesetzten Hilfsstoff Laktose, ist ein viel beachtetes Thema in der pharmazeutischen Technologie. Verschiedenste analytische Methoden bieten die Möglichkeit der Detektion aber auch der Quantifizierung von amorphen Anteilen, wobei die Quantifizierungsgrenze von Methode zu Methode sehr unterschiedlich ist und es trotz aller Bemühungen nach wie vor ein Problem ist, amorphe Anteile im niedrigen Konzentrationsbereich hinreichend genau zu quantifizieren.

Eine Möglichkeit zur Quantifizierung amorpher Anteile bietet die Röntgendiffraktometrie. Während für komplett amorphe Proben nur das charakteristische Halo-Signal zu beobachten ist, zeigen kristalline Proben ein Diffraktogramm mit charakteristischen Peaks der jeweiligen Probe. Eine Kalkulation des amorphen Anteils ist hierbei entweder über die Peakhöhe oder Peakfläche eines für die Probe charakteristischen Peaks möglich. Bei Saleki-Gerhardt et al. (1994) wird die Möglichkeit der Normierung eines Peaks auf einen zugesetzten Standard sowie die Kalkulation ohne einen solchen Standard gezeigt. Es konnte dort kein entscheidender Unterschied in der Quantifizierungsgrenze, die in beiden Fällen bei 10% lag, gezeigt werden. Chen et al. (2001) demonstrierten in ihrer Arbeit, dass die Quantifizierungsgrenze für amorphe Laktose auf unter 1% gesenkt werden konnte, wenn die Gesamtheit aller Peaks des erhaltenen Diffraktogramms und nicht nur ein einzelner Peak integriert wurde.

Eine weitere viel beschriebene Quantifizierungsmethode für amorphe Anteile ist die Dynamische Differenzkalorimetrie. In der Regel erfolgt hierbei die Quantifizierung des amorphen Anteils über Integration des Peaks für die Glasübergangstemperatur oder die Rekristallisation. Im speziellen Fall von Laktose ergibt sich allerdings neben der Tatsache, dass sich der Glasübergangspunkt nur schwer darstellen lässt, das Problem, dass sich für teilamorphe Proben das endotherme Signal der Dehydratation des α -Laktose-Monohydrats mit dem exothermen Signal der Rekristallisation überlagert. Diese Beobachtungen konnten auch für im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Untersuchungen gemacht werden, weshalb eine Quantifizierung amorpher Anteile mit dieser Methode nicht erfolgreich war. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Lehto et al. (2006) überein. Dort ist ausgrunddessen ein alternatives Verfahren zur Quantifizierung amorpher Anteile in Laktose unter Verwendung einer modifizierten Variante der Dynamischen Differenzkalorimetrie beschrieben. Bei der sogenannten „Step-Scan DSC“ wird die spezifische Wärmekapazität der Probe in Abhängigkeit von der Zeit gemessen. Die Veränderung der spezifischen Wärmekapazität bei der Glasübergangstemperatur ist abhängig vom amorphen Gehalt in der Probe, so dass darüber anschließend der amorphe Anteil kalkuliert werden kann.

Auch mikrokolorimetrische Verfahren haben eine weite Verbreitung in der Anwendung zur Bestimmung amorpher Anteile. Im Allgemeinen eignen sich sowohl die statische Ampullenmessmethode als auch die Lösungskalorimetrie zur Quantifizierung von amorphen Anteilen. Die Verwendung der Lösungskalorimetrie basiert auf der Annahme, dass die Lösungsenthalpie vom Kristallinitätsgrad der zu vermessenden Probe abhängig ist. In der Regel werden Lösungsmittel verwendet in denen die Probe vollständig löslich ist. Die Quantifizierungsgrenze amorpher Anteile mit der Lösungskalorimetrie liegt für Laktose bei 1% (Hogan und Buckton, 2000). Harjunen et al. (2004) haben zudem festgestellt, dass eine Quantifizierung des amorphen Anteils mit Hilfe der Lösungskalorimetrie auch möglich ist, wenn die Probe in einer schon gesättigten

Lösung des gleichen Materials gelöst wird, wobei die Quantifizierungsgrenze hierfür auch nur bei 10% amorphem Anteil lag.

Auf das zweite mikrokalorimetrische Verfahren, die Anwendung der statischen Ampullenmessmethode zur Quantifizierung amorpher Anteile, die auch im Rahmen dieser Arbeit auf ihre Eignung getestet wurde, wird in Kapitel 5.2 näher eingegangen.

Des Weiteren wird die Kalkulation amorpher Anteile häufig auf der Basis gravimetrischer Methoden durchgeführt, bei der man sich zu Nutze macht, dass amorphe Laktose eine wesentlich höhere Hygroskopizität aufweist als kristalline Laktose. Hier kommt insbesondere das Verfahren der dynamischen Wasserdampfsorption (dynamic vapor sorption, DVS) zum Einsatz. In der Regel wird hierbei für die Quantifizierung amorpher Anteile die Probe zuerst getrocknet, um adhäsiv gebundenes Wasser zu entfernen und anschließend schrittweise die Feuchtigkeit so weit erhöht, dass es zur Rekristallisation des zu untersuchenden Materials kommt. Über die Massendifferenz zwischen getrocknetem Ausgangsmaterial und dem getrockneten rekristallisierten Material kann so mit Hilfe einer Kalibriergerade der amorphe Anteil bestimmt werden. Eine der ersten Studien zur Kalkulation von amorphen Anteilen in Laktose mittels gravimetrischer basierter Wasserdampfsorption stammt von Buckton und Darcy (1995). Hier konnte die Eignung der DVS zur Detektion amorpher Anteile bis 0,05% gezeigt werden. Nachteilig an diesen Verfahren ist, dass es für Laktose in der Regel zu einer Abweichung zwischen dem bestimmten amorphen Gehalt und dem wahren amorphen Gehalt kommt (Ziffels, 2009). Dies beruht auf der Tatsache, dass die amorphe Laktose wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben auf der einen Seite in das α -Laktose-Monohydrat aber auf der anderen Seite auch in wasserfreie Formen rekristallisieren kann. Das bedeutet, dass es bei der Kalkulation des amorphen Anteils über die Massenzunahme bei Rekristallisation zu zu niedrigen Werten für den amorphen Gehalt kommt, da der Anteil, der in wasserfreie Formen rekristallisiert, nicht mit berücksichtigt wird.

Da alle hier beschriebenen gängigen Methoden zumeist Schwierigkeiten darin aufweisen niedrige amorphe Anteile im Konzentrationsbereich von kleiner 1% zu

quantifizieren, lag der Fokus in dieser Arbeit auf einem vergleichsweise neuen Verfahren zur Quantifizierung amorpher Anteile, das auch auf der gravimetrischen Erfassung der Wassersorption mittels DVS basiert. Im Gegensatz zu den herkömmlichen Verfahren wird hierbei nur mit Feuchten gearbeitet, bei denen das Material noch nicht rekristallisiert. Die Kalkulation des amorphen Anteils ermöglicht sich dann über die Erstellung von Sorptionsisothermen, die unabhängig von der Rekristallisation des Materials sind (Kapitel 5.3).

5.2 Mikrokalorimetrie

Neben der Bestimmung der amorphen Anteile über Sorptionsisothermen wurde auch die statische Ampullenmethode (Kapitel 4.3.1) im Mikrokalorimeter auf ihre Eignung getestet.

Hierfür wurden zur Erstellung einer Kalibriergerade definierte Anteile aus sprühgetrockneter, amorpher und kristalliner Laktose gemischt. Nach erfolgter Messung erhält man das in Abbildung 5.2-1 dargestellte Wärmefluss-Zeit-Diagramm.

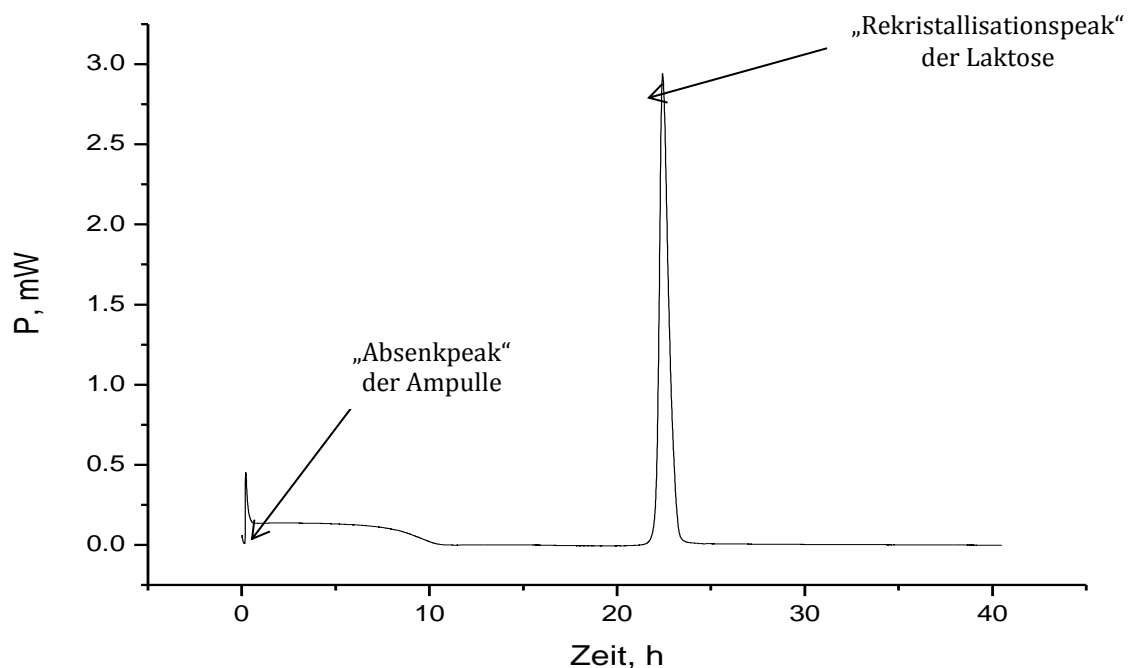


Abbildung 5.2-1: Wärmefluss-Zeit-Diagramm für sprühgetrocknete Laktose

Zum Beginn der Messung zeigt sich ein Peak, der charakteristisch für auftretende Wärmeflüsse ist, die durch das Absenken der Ampulle aus der Equilibrierposition in die Messposition zustande kommen. Sobald die Laktose im weiteren Verlauf der Messung rekristallisiert, erwärmt sich die Probe in der Ampulle gegenüber dem Temperierbad und es findet ein Wärmefluss ausgehend von der Probe in Richtung des Temperierbades statt. Dieses exotherme Ereignis stellt sich als zweiter Peak im Wärmefluss-Zeit-Diagramm dar. Da die Höhe des Wärmeflusses von der Menge des Materials, das zur Rekristallisation zur Verfügung steht, abhängt, kann auf dieser Grundlage eine Kalibriergerade erstellt werden, mit Hilfe derer unbekannte amorphe Anteile in Laktose bestimmt werden können.

Abbildung 5.2-2 zeigt eine solche Kalibriergerade für unterschiedliche Anteile sprühgetrockneter, amorpher Laktose in kristalliner Laktose.

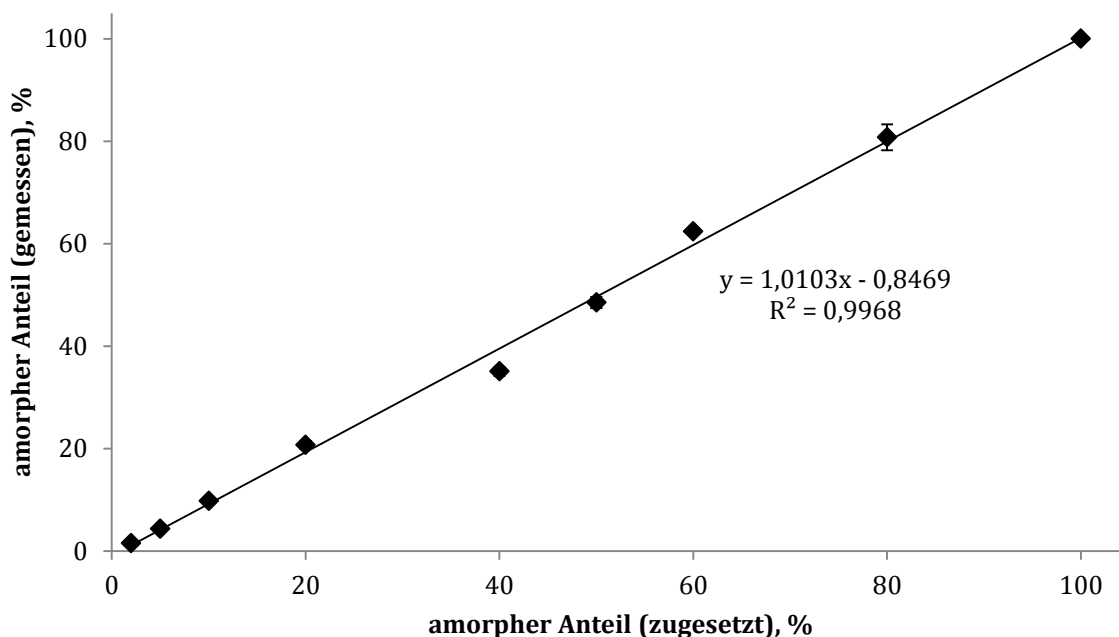


Abbildung 5.2-2: Kalibriergerade mit sprühgetrockneter und kristalliner Laktose

Es zeigt sich mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,9968 im Bereich von 2% - 100% amorpher Laktose eine gute Korrelation zwischen dem gemessenen und dem zugesetzten amorphen Anteil. Die Steigung, die mit 1,0136 nahe 1 liegt, zeigt zudem, dass der zugesetzte amorphe Anteil auch mit einer hohen Genauigkeit wiedergefunden wird und quantifiziert werden kann. Für Mischungen mit

kristalliner und sprühgetrockneter Laktose, die einen amorphen Anteil unter 2% enthielten, erwies sich die Quantifizierung als schwierig. Ein Grund hierfür ist, dass die Zeit bis zum Einsetzen der Rekristallisation mit geringer werdenden amorphen Anteilen immer kürzer wird. Dies führt dazu, dass sich der Peak, der durch das Absenken der Ampulle in die Messposition hervorgerufen wird, und der eigentliche Rekristallisationspeak überlagern. Die Peakfläche kann dadurch nicht mehr mit hinreichender Genauigkeit integriert werden. Dies ist auch der Grund dafür, dass für amorphe Anteile von 10% oder kleiner die Einwaage von 150 mg auf 300 mg erhöht wurde. Dadurch ist der absolute amorphe Anteil in der Ampulle höher, was zu einer etwas verlängerten Zeit bis zum Einsetzen der kompletten Rekristallisation in der Probe führt.

Eine weitere Möglichkeit, um die Zeit bis zum Einsetzen der Kristallisation zu erhöhen, und somit eine bessere Auftrennung der Peaks zu erhalten, ist die Verwendung einer geringeren relativen Feuchte in der Ampulle. Es muss jedoch darauf geachtet werden, dass die Feuchtigkeit hoch genug gewählt wird, damit es überhaupt zur Rekristallisation kommen kann. Bei Briggner et al. (1994) ist ein solcher Vergleich des Einsetzens der Rekristallisation in Abhängigkeit von der Feuchtigkeit beschrieben. Es wurden Hygrostaten mit 85%, 75%, 65% und 53% relativer Feuchtigkeit verwendet. Bei allen vier Feuchten setzte die Kristallisation der sprühgetrockneten Laktose recht früh ein, da die verwendete Probenmasse nur 20 mg betrug. Es konnte aber gezeigt werden, dass sich der Zeitpunkt bis zur Rekristallisation von ca. 2 h bei 85% relativer Feuchte auf ca. 6,5 h bei der Verwendung von 53% relativer Feuchte verschoben hat. Es ist allerdings auch zu beobachten, dass der Peak bei einer höheren Feuchtigkeit schmaler ausfällt und sich demgegenüber ein breiterer Rekristallisationsbereich bei niedrigerer Feuchte zeigt. Ebenso haben Dilworth et al. (2004) die Verwendung von Hygrostaten mit 75% relativer Feuchte und 53% relativer Feuchte für die statische Ampullenmessmethode verglichen und gleichzeitig den Einfluss der später einsetzenden Rekristallisation auf die Quantifizierungsgrenze der Methode untersucht. Wie erwartet sorgte die niedrigere Feuchtigkeit für eine zeitliche Verzögerung der Rekristallisation, dennoch ergab sich in beiden Fällen eine

Quantifizierungsgrenze von 1%. Des Weiteren empfehlen die Autoren den Einfluss der Überlagerung des initialen Peaks mit dem Rekristallisationspeak auf die Ergebnisse zu minimieren, indem beide Peaks zusammen integriert und ausgewertet werden. Es ergaben sich in der vorliegenden Arbeit jedoch, trotz des Versuches den Absenkvorgang der Ampulle möglichst reproduzierbar durchzuführen, stark variierende Peakflächen für den Absenkvorgang, so dass diese alternative Methode der Peakintegration als nicht sinnvoll erachtet wurde. Auch bei Sebhatu et al. (1994) wird der Einfluss der gewählten Feuchtigkeit auf das zeitliche Einsetzen der Rekristallisation untersucht. Die zur Quantifizierung durchgeführten Untersuchungen bei 57% relativer Feuchte zeigen aber auch hier wiederum, dass die Grenze zur Quantifizierung des amorphen Gehaltes dadurch nicht gesenkt werden kann. Die Quantifizierungsgrenze lag wie auch in dieser Arbeit bei 2% amorphem Anteil in der Laktose.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die mikrokolorimetrische Quantifizierung amorpher Anteile in Laktose unter Verwendung der statischen Ampullenmessmethode sehr genaue Ergebnisse liefert. Von Nachteil ist die relativ hohe Quantifizierungsgrenze von 2%. Es gibt verschiedene auch in diesem Kapitel diskutierte Möglichkeiten, das Rekristallisationsereignis für sehr niedrige amorphe Anteile hinauszuzögern. Dies führte jedoch in den in der Literatur beschriebenen Versuchen nicht zu einer Senkung der Quantifizierungsgrenze, so dass geschlossen werden kann, dass für die Quantifizierung niedrigerer amorpher Anteile andere Verfahren als die statische Ampullenmessmethode im Mikrokolorimeter genutzt werden müssen.

5.3 Dynamische Wasserdampfsorption

5.3.1 Einleitung und theoretischer Hintergrund

Im Unterschied zum üblicherweise bei Verwendung der dynamischen Wasserdampfsorption angewandten Rekristallisationsverfahren, das die in Kapitel 5.1 genannten Nachteile aufweist, wird bei der Kalkulation des amorphen Anteils mit Hilfe von Sorptionsisothermen nur mit Feuchtigkeiten gearbeitet bei denen das Material noch nicht rekristallisiert.

Mit der Hilfe von Adsorptionsisothermen kann der Zusammenhang zwischen adsorbiertem Volumen des Adsorbats und dessen Partialdampfdruck dargestellt werden. Solche Adsorptionsisothermen, die ursprünglich zur Beschreibung von Interaktionen zwischen Gasen und Feststoffen entwickelt wurden, sich aber auch auf die Adsorption von Feuchtigkeit auf festen Materialien übertragen lassen, können in fünf verschiedene Typen (Brunauer et al., 1940) eingeteilt werden (Abbildung 5.3-1).

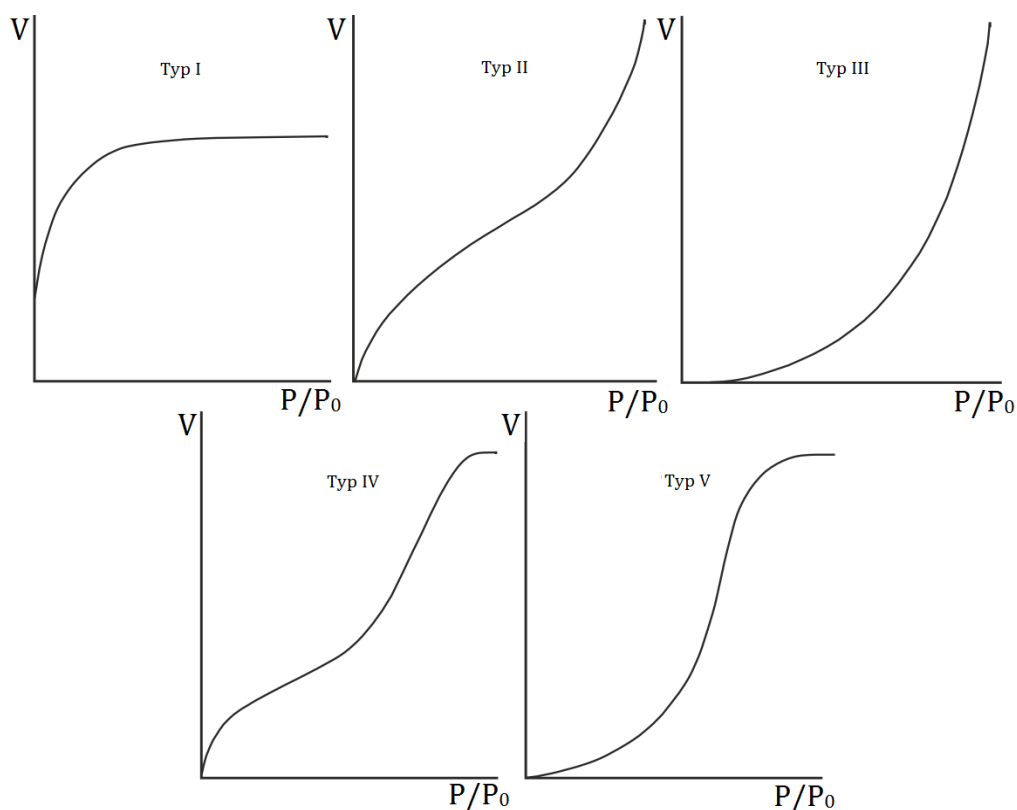


Abbildung 5.3-1: Die fünf unterschiedlichen Typen von Adsorptionsisothermen

Die Adsorptionsisotherme vom Typ I wurde von Langmuir zu Beginn des 20. Jahrhunderts beschrieben. Diese Art von Adsorptionsisotherme geht ausschließlich von der Adsorption in einer monomolekularen Schicht auf dem festen Material aus. Der Adsorptionsvorgang findet so lange statt, bis sich eine komplette monomolekulare Schicht auf dem Material ausgebildet hat. Danach zeigt die Kurve die Ausbildung eines Plateaus und es finden trotz weiterer Steigerung des Partialdampfdruckes keine weiteren Adsorptionsvorgänge statt. Das Plateau dieser Adsorptionsisotherme entspricht der Kapazität der Schicht, die zur monomolekularen Bedeckung notwendig ist.

Demgegenüber zeigt die Adsorptionsisotherme vom Typ II keine Ausbildung eines solchen Plateaus. Vielmehr zeigt sich nach anfänglich ähnlichem Kurvenverlauf wie für die Adsorptionsisotherme vom Typ I ein starker Anstieg des adsorbierten Volumens bei höheren Partialdampfdrücken. Es stellt sich insgesamt ein S-förmiger Kurvenverlauf dar. Bei Adsorptionsisothermen mit einem solchen Kurvenverlauf findet die Adsorption nicht ausschließlich in einer monomolekularen Schicht statt, sondern es schließt sich die Ausbildung weiterer Schichten des Adsorbats an, sobald sich die zur monomolekularen Bedeckung notwendige Schicht vollständig ausgebildet hat.

Adsorptionsisothermen vom Typ III beschreiben, im Gegensatz zu den beiden vorher beschriebenen Typen, eine eher schwache Sorption des Adsorbats auf der Feststoffoberfläche, wie es für hydrophobe Stoffe bei der Adsorption von Wasser der Fall ist. Hierbei kommt es durch die nur sehr schwache Wechselwirkung zwischen Adsorbat und Adsorbens schon zur Ausbildung von Mehrfachschichten des Adsorbats auf der Oberfläche, bevor überhaupt die monomolekulare Schicht vollständig belegt ist.

Adsorptionsisothermen vom Typ IV beschreiben einen gehemmten Adsorptionsprozess, der durch Poren im Material begrenzt wird. Die Adsorptionsisotherme von Typ V gleicht zu Beginn dem Kurventyp III während sie am Ende den Verlauf der Adsorptionsisotherme vom Typ IV annimmt. Adsorptionsisothermen vom Typ III und Typ V können vorkommen, sind in der Regel aber eher selten, da zumeist stärkere Kräfte zwischen Adsorbat und

Adsorbens beobachtet werden können, als durch diese Kurventypen beschrieben werden. Oft überlagern sich in der Realität aber auch verschiedenste Effekte, so dass es zu Kurvenverläufen kommt, die einer Mischung aus den vorgestellten fünf theoretischen Typen von Adsorptionsisothermen entsprechen. Während die Adsorptionsisotherme vom Typ I mit der Gleichung nach Langmuir beschrieben wird, kann die Adsorptionsisotherme vom Typ II mit Hilfe von Formel 5.3-1, der Gleichung nach Brunauer, Emmett und Teller (BET), beschrieben werden (Brunauer et al., 1938).

$$W = \frac{W_m \cdot c_B \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (c_B - 1) \cdot a_w)}$$

Formel 5.3-1: BET-Gleichung

Hierbei ist W die insgesamt adsorbierte Menge des Adsorbats. Der Parameter W_m beschreibt die Menge des Adsorbats, die notwendig ist, um eine komplette monomolekulare Schicht auf dem Feststoff auszubilden. a_w ist der Partialdruck des Adsorbats über der Feststoffoberfläche. Die Konstante c_B ist eine Energiekonstante, die den energetischen Unterschied zwischen der Kondensationsenergie des flüssigen Adsorbats und der Adsorptionsenergie der monomolekularen Schicht beschreibt.

Diese ursprüngliche Form der BET-Gleichung berücksichtigt nur in vereinfachter Form die Wechselwirkungen zwischen einer monomolekularen Schicht auf der Probe und sich anschließenden Mehrfachschichten des Adsorbats. Auf der einen Seite wird die Adsorptionsenergie der auf die monomolekulare Schicht folgenden Schichten gleich der Kondensationsenergie des Adsorbats angenommen. Zudem wird vorausgesetzt, dass die Adsorption in allen Bereichen mit der gleichen Geschwindigkeitskonstanten abläuft. Deshalb ist bei Anwendung der BET-Gleichung häufig zu beobachten, dass es bei höheren Partialdampfdrücken, von 0,4 oder mehr, zu einer Abweichung zwischen der tatsächlich adsorbierten Menge und dem berechneten adsorbierten Volumen kommt.

Um auch bei höheren Partialdampfdrücken das auf der Oberfläche befindliche Adsorbatvolumen genauer als mit der BET-Gleichung kalkulieren zu können, hat es viele Versuche der Modifizierung beziehungsweise Erweiterung der BET-Gleichung gegeben. Die bekannteste und neben der BET-Gleichung am meisten angewandte erweiterte Form dieser Gleichung (Timmermann et al., 2001) wurde von Guggenheim, Anderson und de Boer (GAB) beschrieben (Anderson, 1946). Im Gegensatz zur BET-Gleichung berücksichtigt die GAB-Gleichung zusätzlich die Energieunterschiede zwischen der ersten monomolekular gebundenen Adsorbatschicht und den darauf folgenden weniger stark gebundenen Adsorbatschichten und erweist sich somit auch im Bereich höherer Partialdampfdrücke als gültig. Dies wird durch die Einführung einer weiteren Konstante k zur BET-Gleichung möglich, wodurch sich die GAB-Gleichung (Formel 5.3-2) ergibt.

$$W = \frac{W_m \cdot c_G \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 + (c_G - 1) \cdot k \cdot a_w)}$$

Formel 5.3-2: GAB-Gleichung

Im Falle der GAB-Gleichung ist c_G die Energiekonstante, die den Energieunterschied zwischen der monomolekularen Schicht und den folgenden Adsorptionsschichten beschreibt. Die zusätzlich eingeführte Konstante k beschreibt den Unterschied zwischen der Kondensationsenergie des flüssigen Adsorbats und der Adsorptionsenergie der auf die monomolekulare Schicht folgenden höheren Adsorptionsschichten.

5.3.2 Wassersorptionsverhalten amorpher Laktose

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen mit der DVS zur Erstellung von Sorptionsisothermen erhält man für sprühgetrocknete, amorphe Laktose den in Abbildung 5.3-2 dargestellten Kurvenverlauf.

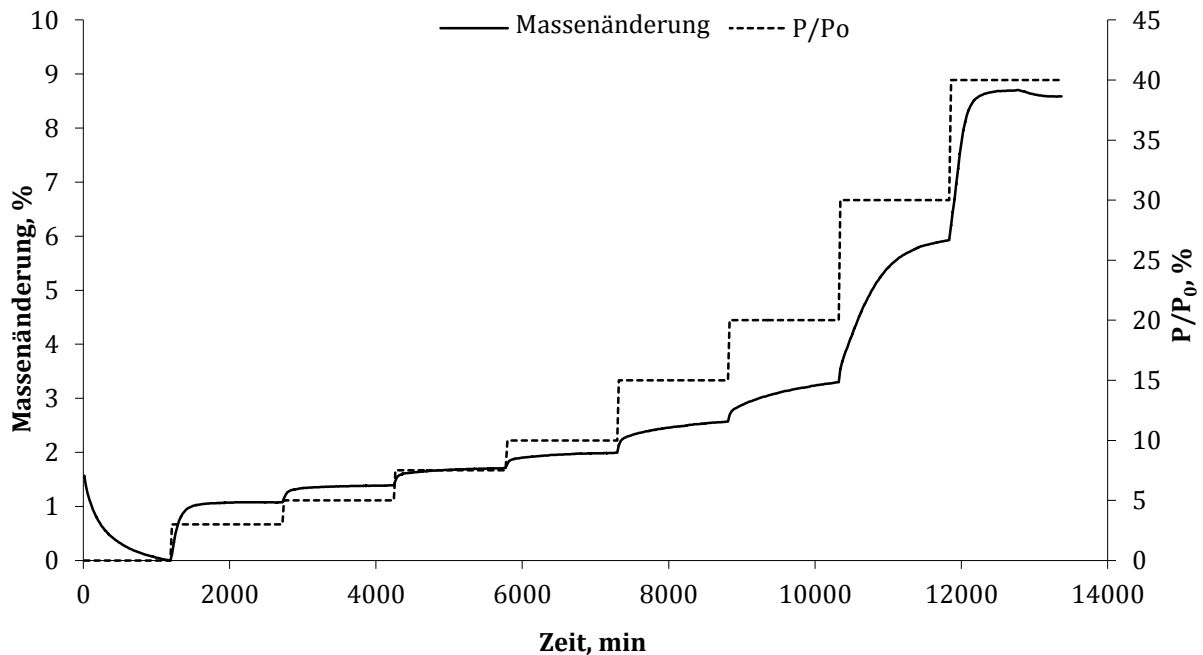


Abbildung 5.3-2: Prozentuale Massenänderung über die Zeit für sprühgetrocknete Laktose

Am Ende jeder Feuchtigkeitsstufe war das Gleichgewichtskriterium $dm/dt < 0,0005\%$ erreicht. Auffällig ist, dass die sprühgetrocknete Laktose am Anfang nur wenig Wasser aufnimmt. Die größte Wassermenge wird ab einer relativen Feuchte von 30% aufgenommen. Dies hängt damit zusammen, dass die Laktose ab einer relativen Feuchte von ca. 45% zu rekristallisieren beginnt. Je weiter man sich bei der stufenweisen Erhöhung der Feuchtigkeit dem Glasübergangspunkt der Laktose nähert, desto höher wird die Mobilität der Moleküle und umso mehr Wasser kann sorbiert werden.

Die Sorptionsisotherme der Probe erhält man durch Auftragung der Massenänderung bei jeder Feuchtigkeitsstufe gegen relative Feuchte. Die Masse wird dazu auf die Masse nach der Trocknung zu Beginn der Messung bezogen. In

Abbildung 5.3-3 ist eine solche Sorptionsisotherme für die sprühgetrocknete, amorphe Laktose dargestellt.

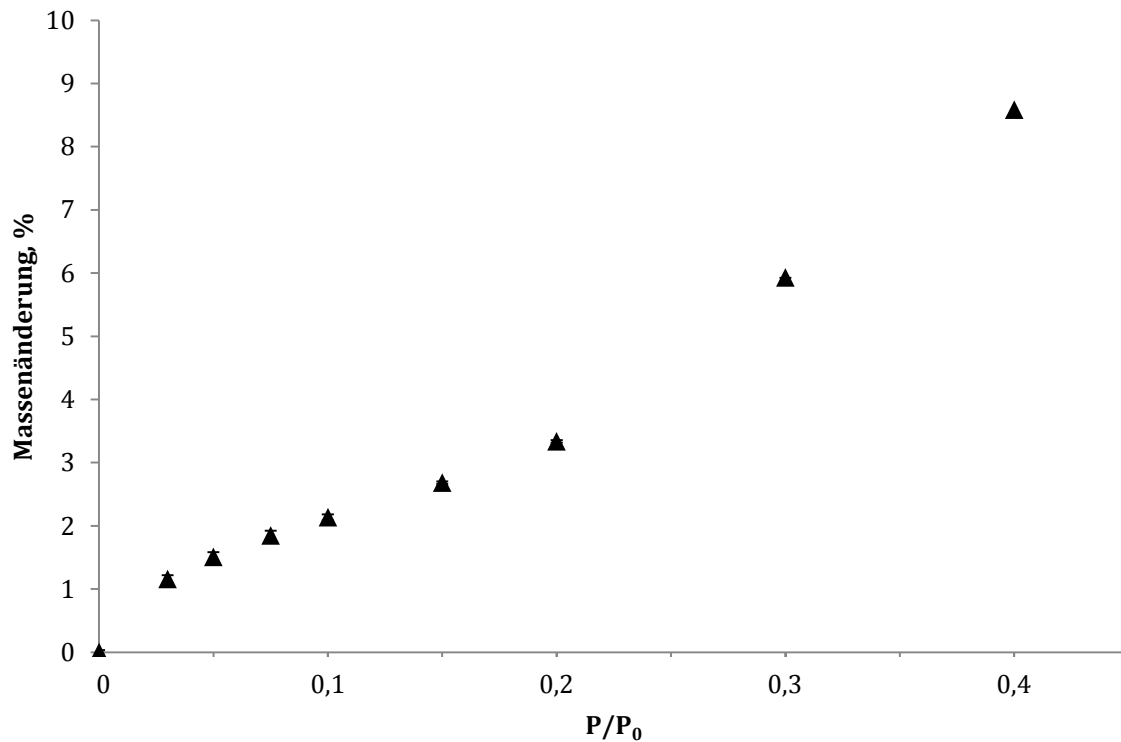


Abbildung 5.3-3: Sorptionsisotherme für sprühgetrocknete Laktose

Auch hier sieht man den deutlichen Sprung in der Menge des sorbierten Wassers ab einem Wasserdampfpartialdruck von 0,3. Wird der amorphe Anteil in der Laktose verringert, vermindert sich auch das Aufnahmevermögen.

Abbildung 5.3-4 zeigt die sich in den Sorptionsisothermen widerspiegelnde Abhängigkeit der Wassersorption vom amorphen Anteil. Dargestellt sind Mischungen aus kristalliner und sprühgetrockneter, amorpher Laktose im Bereich amorpher Konzentrationen von 5% bis 100%.

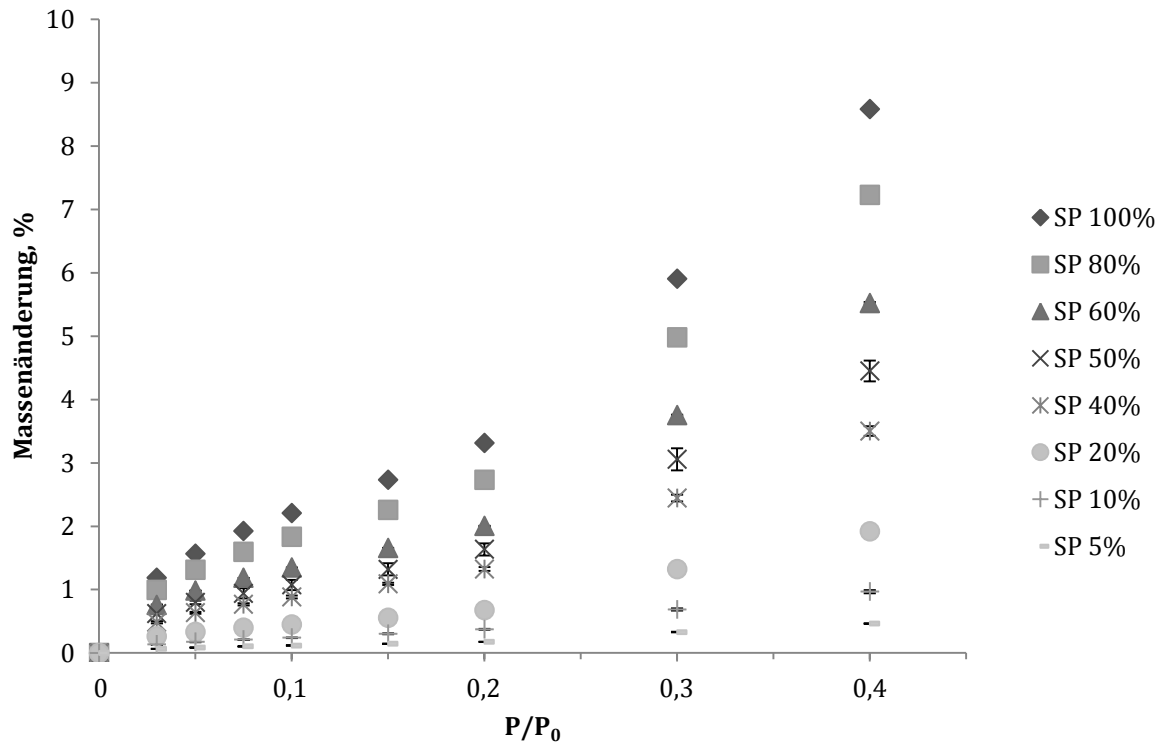


Abbildung 5.3-4: Sorptionsisothermen von Mischungen kristalliner mit sprühgetrockneter Laktose im Konzentrationsbereich von 5-100% sprühgetrocknetem amorphem Anteil

Es ist deutlich zu erkennen, dass sich die Sorptionsisothermen mit steigenden amorphen Anteilen in Richtung höherer Masseänderungen verschieben.

Es lässt sich nun für die Quantifizierung amorpher Anteile in Laktose diese Tatsache nutzen, dass sich amorphe und kristalline Substanzen hinsichtlich ihrer absoluten Wasseraufnahmefähigkeit unterscheiden. Während es bei rein kristallinen Materialien nur zu einer reinen Adsorption des Wassers auf der Oberfläche kommt, dringt das Wasser bei amorphen Materialien tiefer in das Material ein, wodurch es mit steigenden amorphen Anteilen in der Laktose zu steigenden Wassersorptionen kommt. In den folgenden beiden Kapiteln werden zwei unterschiedlichen Auswertungsverfahren zur Kalkulation des amorphen Anteils auf Grundlage der Sorptionsisothermen vorgestellt.

5.3.3 Kalkulation des amorphen Anteils über die Kapazität der monomolekular gebundenen Feuchtigkeitsschicht

Dadurch dass es bei der amorphen Laktose nicht nur zu einer reinen Oberflächenadsorption des Wassers kommt, lässt sich bei höheren Partialdampfdrücken ein sprunghafter Anstieg in der sorbierten Wassermenge beobachten. Bei amorphen Materialien kommt es zu gänzlich anderen Vorgängen während der Sorption von Wasser als bei kristallinen Materialien, weshalb es wichtig ist zu hinterfragen in wie weit hierbei die Anwendung der BET-Gleichung beziehungsweise die Berechnung der Kapazität der monomolekularen Schicht zur Bestimmung des amorphen Anteils die Vorgänge überhaupt korrekt beschreiben.

Da bei der Interaktion von Wasser mit amorphen Materialien eher von einer Absorption als von einer Adsorption auf der Oberfläche zu sprechen ist, gibt es ebenso Ansätze diese Absorption von Wasser durch amorphe Materialien als eine Art Lösungsprozess zu sehen. Dabei wird die Wasseraufnahme von amorphen Substanzen mit Hilfe der thermodynamischer Gleichung nach Flory und Huggins, die ursprünglich für Polymerlösungen entwickelt wurden, beschrieben (Zhang und Zografi, 2000). Ebenfalls wurde die Verwendung des Vrentas Models für die Beschreibung der Vorgänge bei Wasseraufnahme durch amorphe Materialien herangezogen (Hancock und Zografi, 1993).

Es hat sich dennoch gezeigt, dass auch die Zugrundelegung der BET-Gleichung für amorphe Materialien zu sinnvollen Ergebnissen führt. Es besteht die Theorie, dass der Aufnahme von Wasser durch amorphe Materialien zwei grundsätzliche Mechanismen zugrunde liegen. Zum einen kommt es zum Lösen des Adsorbats im amorphen Material und auf der anderen Seite zur gleichzeitigen Füllung von im amorphen Material vorhandenen Mikroporen. Wenn diese Mikroporen gesättigt sind, ist das Adsorbatvolumen erreicht, das dem Wert des Volumens der monomolekularen Schicht entspricht (Zografi, 1988). Daran schließt sich die Anlagerung weiterer Feuchtigkeitsschichten an. Die Kapazität der monomolekularen Schicht spiegelt also nicht wie bei kristallinen Materialien das

rein auf der Oberfläche in einer monomolekularen Schicht gebundene Wasser wieder. Sie kann aber dennoch als Parameter zur Beurteilung des amorphen Materials herangezogen werden, da ihre Höhe mit dem amorphen Anteil in einer Probe korreliert, wie im Folgenden dargestellt wird.

Die Kalkulation des Volumens des in monomolekularer Schicht auf der Probe gebundenen Adsorbats, kann aus dem Punkt in der Adsorptionsisotherme ermittelt werden, an dem der Kurvenverlauf beginnt einen linearen Verlauf anzunehmen. Es ist aber ebenso möglich die Kapazität der monomolekularen Schicht durch Linearisierung der BET-Gleichung zu ermitteln. Brunauer et al. (1938) konnten zeigen, dass es für die beiden unterschiedlichen Arten der Kalkulation nur zu sehr geringen Abweichungen der Werte voneinander kommt. In dieser Arbeit wurde, wie im Folgenden beschrieben, die Kalkulation mit Hilfe der Linearisierung der BET-Gleichung vorgenommen.

Bei Auftragung des Terms $\frac{1}{W} \cdot \frac{a_w}{1 - a_w}$ gegen a_w erhält man eine Gerade aus der der Wassergehalt der monomolekular gebundenen Schicht kalkuliert werden kann. Abbildung 5.3-5 stellt diese Linearisierung der BET-Gleichung dar.

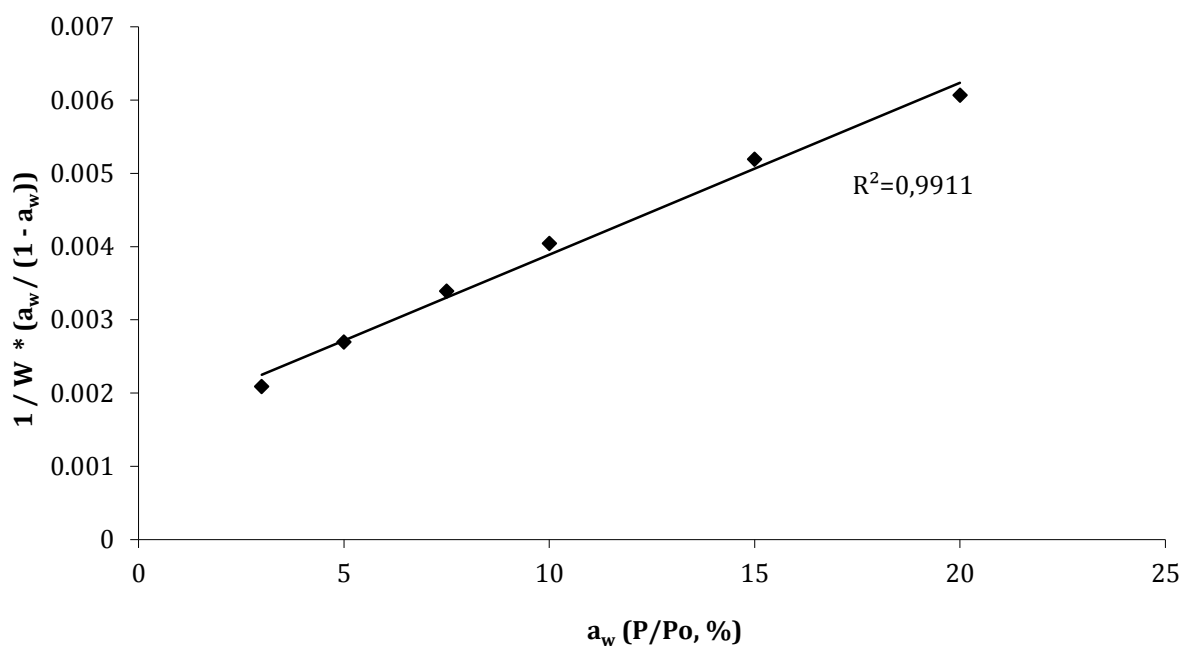


Abbildung 5.3-5: Lineare Auftragung zur Kalkulation des Wassergehaltes der monomolekularen Schicht für sprühgetrocknete Laktose

Der zuvor beobachtete starke Anstieg in der Wassersorption der amorphen Laktose ab einer relativen Feuchte von 30% führt dazu, dass bei Einbeziehung von relativen Feuchten über 20% in die Kalkulation die Messwerte deutlich von der Geraden abweichen. Deshalb wurde für die Auswertung generell nur der Partialdampfdruckbereich von 0,03 bis 0,2 berücksichtigt. Diese Abweichung konnte auch für die hier nicht extra aufgeführte Kalkulation über die GAB-Gleichung beobachtet werden, so dass es unter Zuhilfenahme der GAB-Gleichung auch nicht möglich wäre höhere Partialdampfdrücke mit einzubeziehen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Vollenbroek et al. (2010).

Abbildung 5.3-6 stellt den linearen Zusammenhang zwischen dem aus der Steigung der linearisierten Form der BET-Gleichung erhaltenen Parameter W_m und dem amorphen Anteil in Mischungen aus kristalliner und amorpher Laktose im Bereich amorpher Konzentrationen von 0,1-100% dar. Für alle Mischungen wurde das Ergebnis um den Wert, der für die kristalline Laktose erhalten wurde, korrigiert.

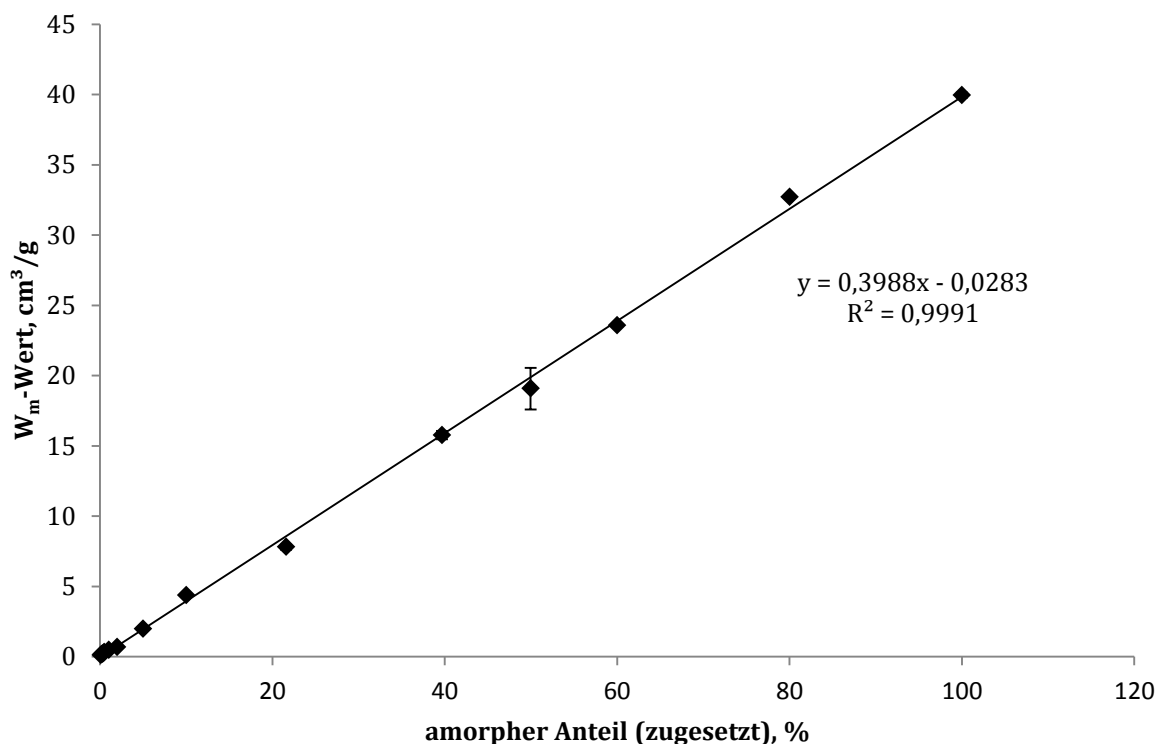


Abbildung 5.3-6: Auftragung des Wassergehaltes der monomolekular gebundenen Schicht (W_m) gegen den zugesetzten amorphen Anteil für Mischungen aus sprühgetrockneter und kristalliner Laktose im Konzentrationsbereich von 0,1-100%

Es ergibt sich bei Auftragung des Wassergehaltes der monomolekularen Schicht von Proben unterschiedlicher amorpher Konzentrationen ein linearer Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt der monomolekularen Schicht und dem zugesetzten amorphen Anteil.

Mit Hilfe des Wertes für die in monomolekularer Schicht sorbierte Wassermenge lässt sich der gemessene amorphe Anteil (X) in den Laktosemischungen über folgende Formel kalkulieren:

$$X, \% = \frac{W_m(X\%)}{W_m(100\%)} \cdot 100\%$$

$W_m(X\%)$: Kapazität der monomolekularen Schicht der unbekannten Probe

$W_m(100\%)$: Kapazität der monomolekularen Schicht der amorphen Laktose

Abbildung 5.3-7 stellt die Auftragung des gemessenen gegen den zugesetzten amorphen Anteil dar.

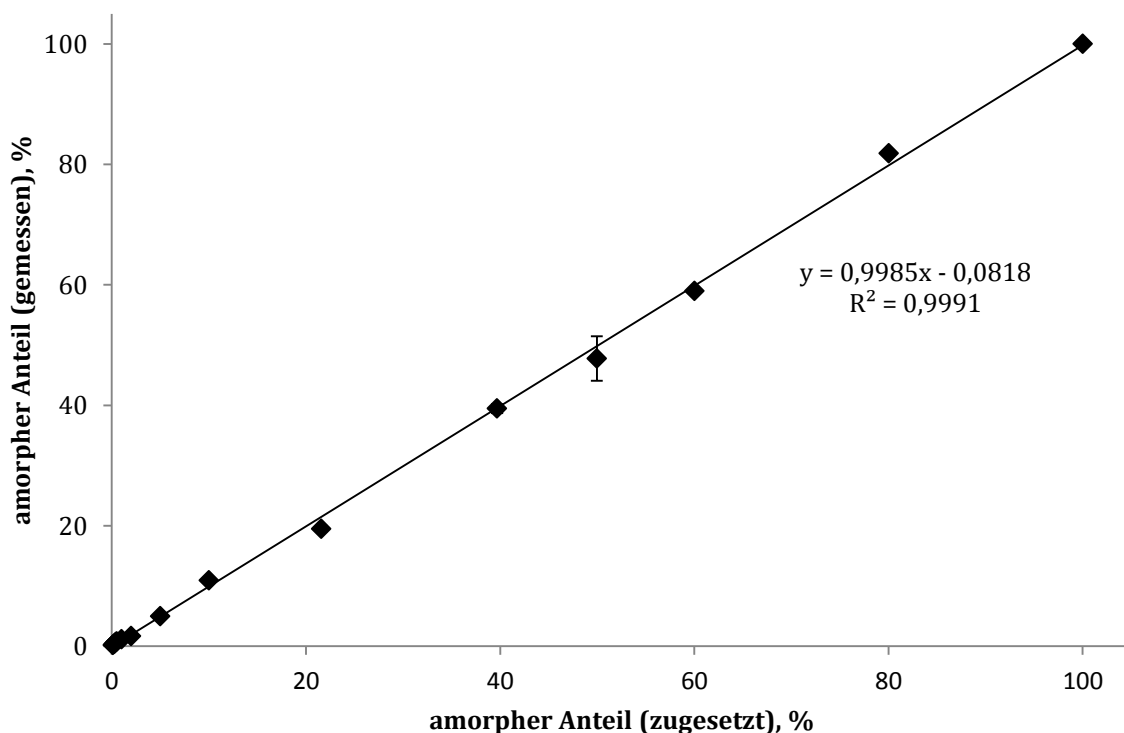


Abbildung 5.3-7: Auftragung des gemessenen gegen den zugesetzten amorphen Anteil für sprühtrocknete Laktose im Konzentrationsbereich von 0,1-100%

Es ergibt sich eine gute Korrelation der gemessenen mit den zugesetzten amorphen Anteilen. Die Steigung, die mit 0,9985 sehr nah an 1 liegt, zeigt dass sich der zugesetzte amorphe Gehalt sich mit sehr hoher Genauigkeit im gemessenen amorphen Gehalt widerspiegelt.

Nachfolgend ist der Bereich niedrigerer amorpher Anteile von 0,1% bis 1% dargestellt (Abbildung 5.3-8).

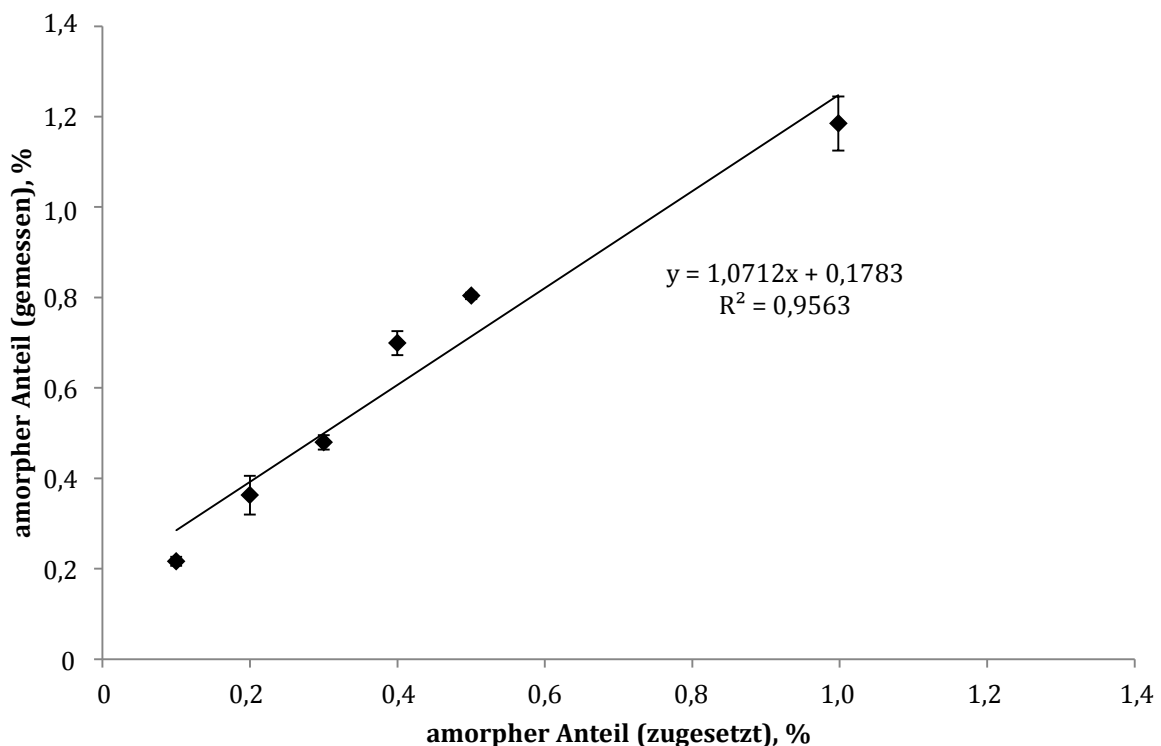


Abbildung 5.3-8: Auftragung des gemessenen gegen den zugesetzten amorphen Anteil für sprühgetrocknete Laktose im Konzentrationsbereich von 0,1-1,0%

Auch im Bereich niedrigerer amorpher Anteile von 0,1% bis 1% ist ein linearer Zusammenhang zwischen dem gemessen und dem zugesetzten amorphen Gehalt zu erkennen. Mit einem Wert von 1,0712 für die Steigung liegt diese auch für den Bereich von 0,1 bis 1% amorpher Laktose nahe 1. Es zeigt sich aber eine Tendenz dahingehend, dass die bestimmten amorphen Anteile etwas zu hoch liegen. Die Werte streuen zudem etwas stärker um die Ausgleichsgerade als bei höheren amorphen Konzentrationen. Bei den Proben mit niedrigen amorphen Konzentrationen, kommt es bedingt durch die insgesamt recht geringe

Wasseraufnahme vereinzelt zu einer starken Streuung der Werte um die Gerade zur Linearisierung der BET-Gleichung. Solche Messungen wurden gegebenenfalls wiederholt und nur solche mit hinreichender Korrelation ausgewertet.

Generell können Schwankungen im Bereich niedriger amorpher Konzentrationen auch in Inhomogenitäten der Pulvermischungen begründet liegen. Die Homogenitäten der Mischungen aus kristalliner und amorpher Laktose konnten, aus Mangel an alternativen Methoden zur Quantifizierung niedriger amorpher Anteile, zuvor nicht bestimmt werden.

5.3.4 Kalkulation des amorphen Anteils über die Massenzunahme bei einer definierten Feuchte

Als ein weiteres Verfahren zur Kalkulation des amorphen Anteils auf Basis der erstellten Sorptionsisothermen wurde die Massenzunahme der amorphen Laktose bei einer definierten Feuchtigkeit zugrunde gelegt. Da die amorphe Laktose hygroskopischer ist als im kristallinen Zustand, sollte sich auch auf diese Weise eine Kalibriergerade erstellen lassen. Dieses Vorgehen wurde für jede der acht Feuchtigkeitsstufen getestet. Hierzu wurde die Masse am Ende einer jeden Feuchtigkeitsstufe, wenn die Massekonstanz erreicht war und kein weiteres Wasser von der Probe mehr aufgenommen werden konnte, gegen den amorphen Anteil in der Laktose aufgetragen. Diese Auftragung der Massenzunahme bei jeder Feuchtigkeitsstufe ist in Abbildung 5.3-9 dargestellt.

Für alle Proben wurde die Massenzunahme um den jeweiligen Wert von kristalliner Laktose korrigiert.

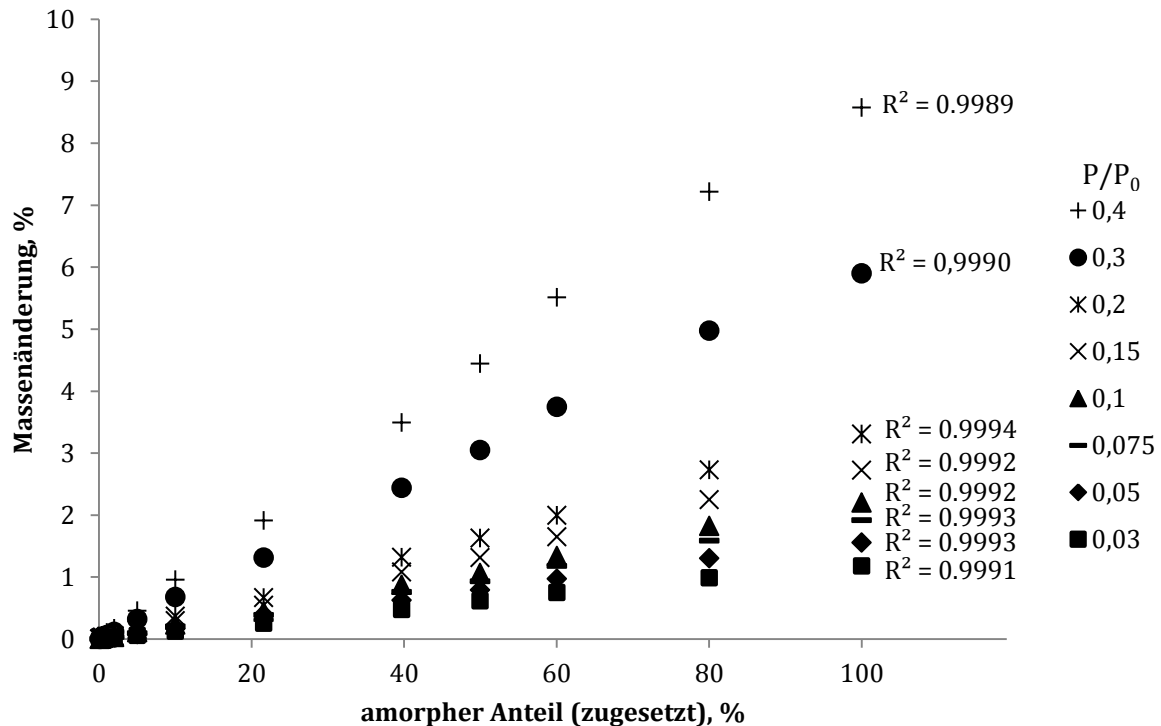


Abbildung 5.3-9: Massenänderung amorpher Laktose bei unterschiedlichen Feuchten im Konzentrationsbereich von 0,1-100% sprühgetrockneter Laktose

Es ergibt sich für jede der acht Feuchtigkeitsstufen ein linearer Zusammenhang zwischen der durch die Feuchtigkeit bedingten Massenzunahme der Laktose und dem zugesetzten amorphen Anteil. Dies zeigt, dass es neben der Auswertung mit Hilfe der BET-Gleichung möglich ist, die Probe einer beliebigen Feuchte auszusetzen, bei der das Material noch nicht rekristallisiert und über die Massenzunahme bei dieser Feuchtigkeit den amorphen Anteil mit Hilfe einer zuvor erstellten Kalibriergerade zu kalkulieren.

Abbildung 5.3-10 zeigt die Auftragung des gemessenen gegen den zugesetzten amorphen Anteil.

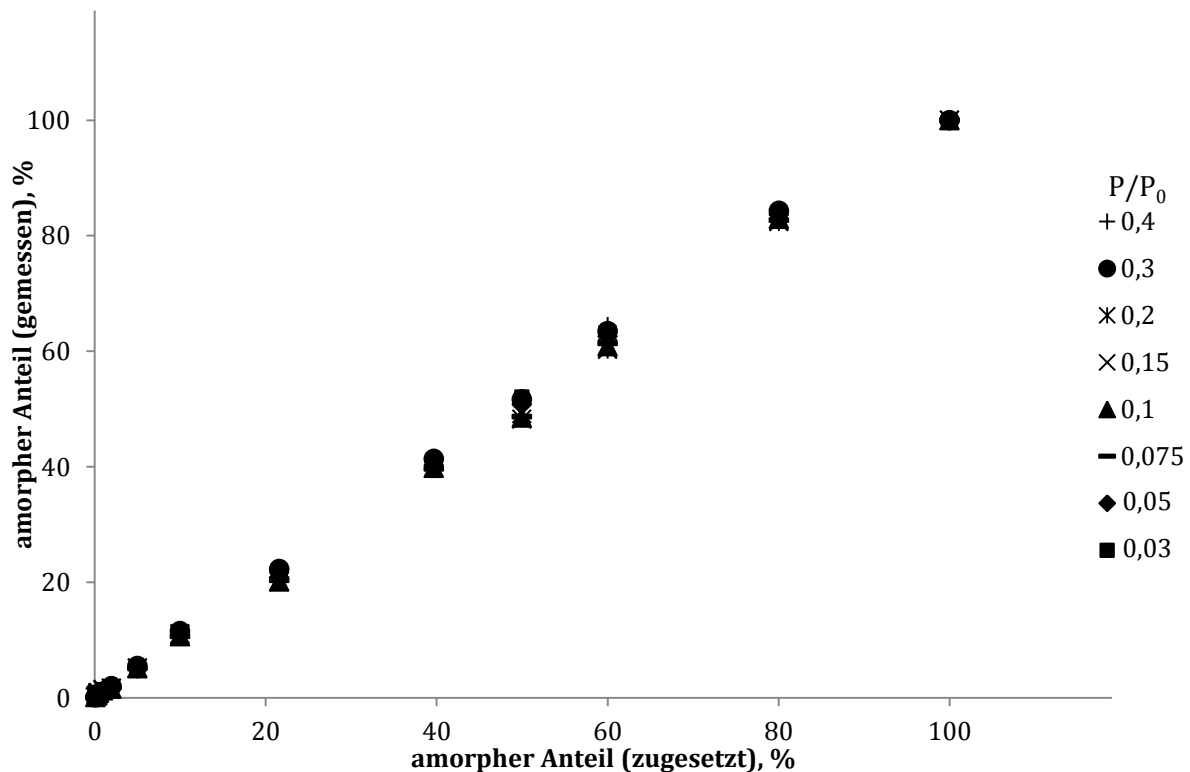


Abbildung 5.3-10: Kalibriergeraden bei unterschiedlichen Feuchtestufen für 0,1-100% sprühgetrocknete Laktose

Die Auftragung des gemessenen amorphen Anteils gegen den zugesetzten amorphen Anteil zur Erstellung von Kalibriergeraden ergibt für jede gewählte Feuchtigkeitsstufe annähernd den gleichen Verlauf. Auch dieses Auswertungsverfahren zeigt eine gute Wiederfindung des zugesetzten amorphen Anteils. Für alle Feuchtigkeitsstufen liegt die Steigung der Kalibriergeraden nahe 1. Die größte Steigung wird mit 1,0256 für 40% rF erhalten, während sich die niedrigste Steigung für 15% rF mit einem Wert von 1,0045 ergibt.

Für die Betrachtung dieses Auswertungsverfahrens im Konzentrationsbereich niedrigerer amorpher Anteile (0,1%-1%) sind der besseren Übersichtlichkeit halber in Abbildung 5.3-11 die Kurven für die Korrelation zwischen gemessenem und zugesetztem amorphem Anteil einzeln bei jeder Feuchtigkeitsstufe aufgetragen.

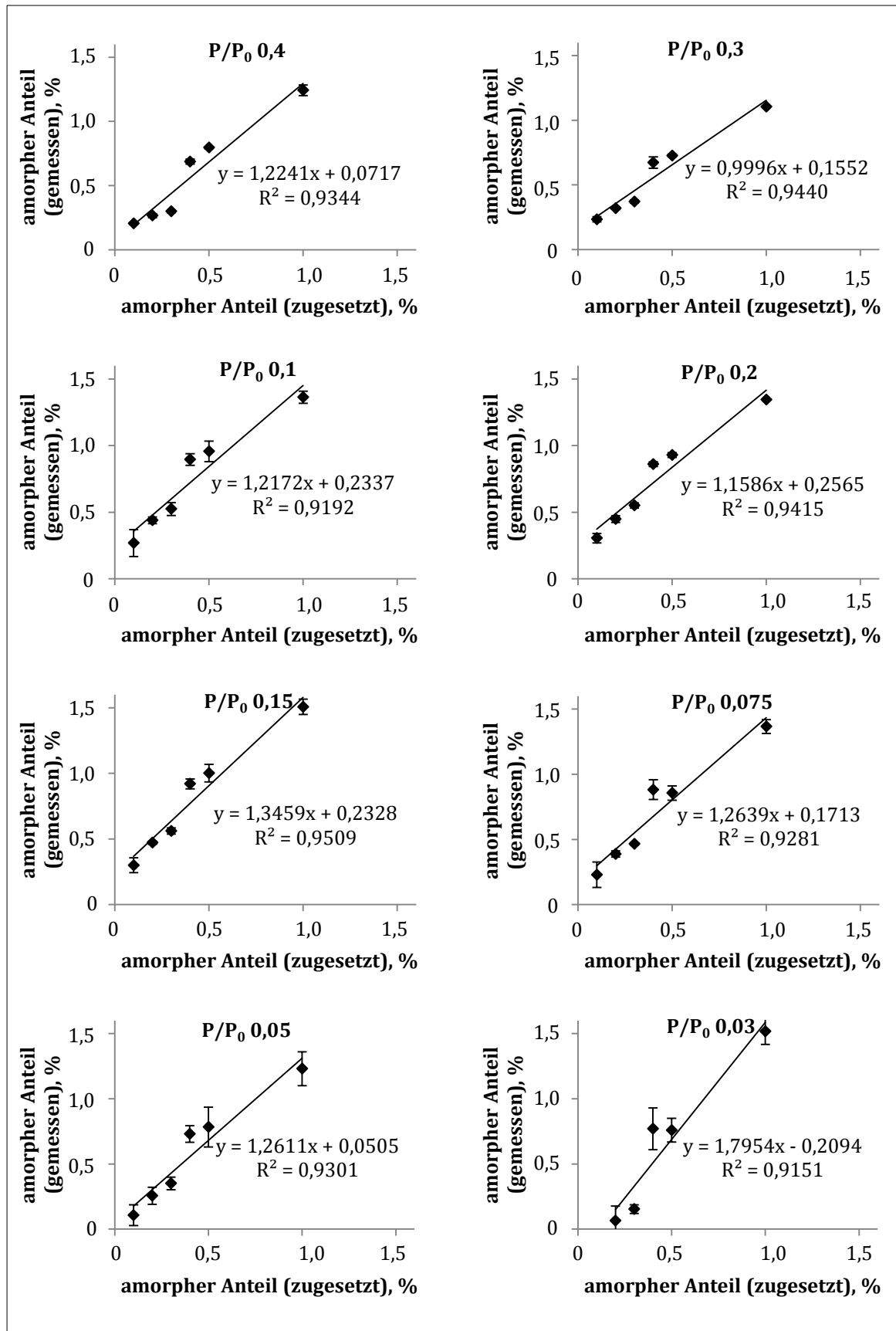


Abbildung 5.3-11: Kalibriergeraden bei unterschiedlichen Feuchtigkeitsstufen für 0,1-1% sprühgetrocknete Laktose

Die genaueste Wiederfindung des amorphen Anteils ergibt sich bei einer relativen Feuchte von 30%. Die Steigung der Geraden liegt hier mit 0,9996 am nächsten am Wert 1, während es bei höheren und niedrigeren relativen Feuchten zu zu hohen gemessenen Werten für den amorphen Anteil kommt. Dass sich die besten Werte für eine relative Feuchte von 30% ergeben, mag durch den schon zuvor beobachteten Effekt zustande kommen, dass es bei 30% relativer Feuchte zum größten Anstieg in der Wasseraufnahme kommt. Dadurch ist der Unterschied in der absoluten Masse der Proben höher und Messschwankungen fallen nicht so stark ins Gewicht wie bei der nur sehr geringen Feuchtaufnahme bei niedrigerer Feuchte. Dies wird auch an der Zunahme der Höhe der Fehlerindikatoren bei niedrigerer relativer Feuchte ersichtlich. Bei einer relativen Feuchte von 3% ist der Wert für die Mischung mit 0,1% amorphem Anteil zudem nicht mehr darstellbar, da er durch die geringen Unterschiede im absoluten Wasseraufnahmevermögen unter dem Wert der rein kristallinen Laktose liegt.

5.4 Untersuchung von Einflussfaktoren auf das Wassersorptionsverhalten amorpher Laktose

5.4.1 Einleitung

Ebenso wie für die sprühgetrocknete Laktose in Kapitel 5.3 gezeigt, konnte auch für die durch Mahlung amorphisierte Laktose ein linearer Zusammenhang zwischen dem amorphen Anteil und der Wasseraufnahmefähigkeit gezeigt und eine Kalibriergerade erstellt werden. Hierbei fiel auf, dass sich die komplett amorphen Standards der beiden unterschiedlich prozessierten Laktosen in ihrer Wassersorptionsfähigkeit unterschieden. Zudem zeigte sich ein Unterschied zwischen der amorphen Laktose aus dem alten und der aus dem neuen Mahlprozess. In Kapitel 5.4.2 werden die Unterschiede zwischen den vollständig amorphen Laktosestandards aus den unterschiedlichen Herstellungsprozessen aufgezeigt. Da im Rahmen dieser Arbeit zahlreiche Chargen an gemahlener

Laktose benötigt wurden und sich auch hierfür mit der Zeit Schwankungen im Wassersorptionsverhalten ergeben haben, werden anschließend in Kapitel 5.4.3 unterschiedliche Einflussparameter auf das resultierende Wassersorptionsverhalten der gemahlenden, amorphen Laktose untersucht.

5.4.2 Unterschiede zwischen sprühgetrockneter und gemahlener Laktose

Durch den Defekt der ersten Mühle konnten nicht so viele Chargen gemahlener Laktose aus dem alten Mahlprozess hergestellt werden, dass hiervon eine umfassende Charakterisierung möglich war. Deshalb bezieht sich der folgende Vergleich auf die sprühgetrocknete und die gemahlene Laktose aus dem neuen Mahlprozess.

5.4.2.1 Partikelgrößenverteilung

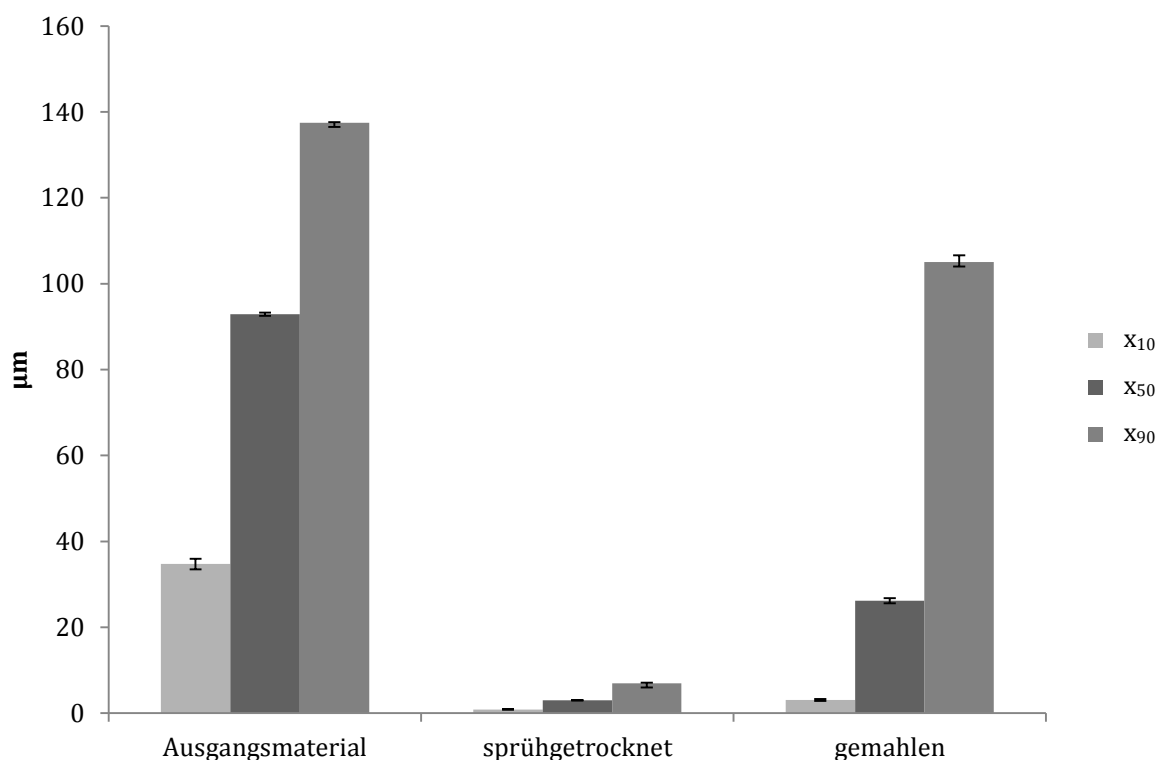


Abbildung 5.4-1: Partikelgrößen von unterschiedlich prozessiertem Inhalac 230

Sowohl durch die Sprühtrocknung als auch durch die Mahlung der Laktose kommt es zu einer Partikelgrößenverkleinerung im Vergleich zum kristallinen Ausgangsmaterial (Abbildung 5.4-1). Die sprühgetrocknete Laktose zeigt die kleinste Partikelgröße, bedingt dadurch, dass die Laktoselösung während der Sprühtrocknung zu feinen Tröpfchen zerstäubt wird, welche umgehend getrocknet werden und somit die Partikelgröße der Laktose bestimmen. Bei der Mahlung kommt es hingegen nur zu einer geringeren Partikelgrößenabnahme.

5.4.2.2 Spezifische Oberfläche

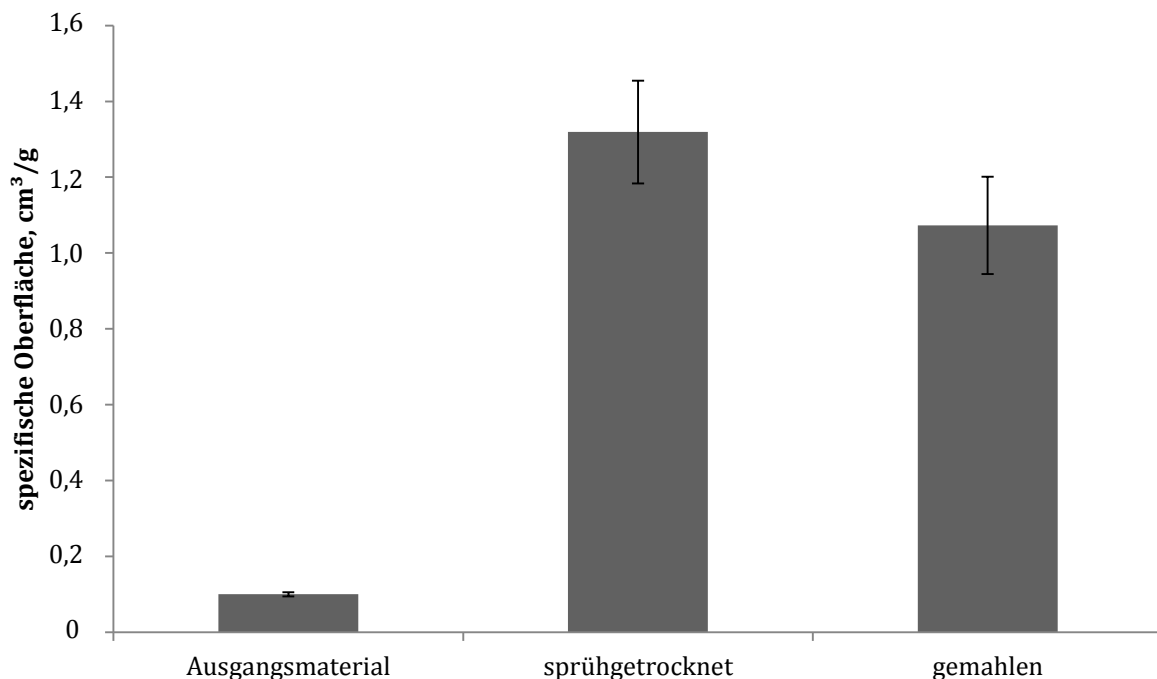


Abbildung 5.4-2: Spezifische Oberflächen von unterschiedlich prozessiertem Inhalac 230

Die spezifische Oberfläche der sprühgetrockneten Laktose ist aufgrund der kleineren Partikelgröße und des kugelförmigen Charakters der Partikel wesentlich größer als die des Ausgangsmaterials (Abbildung 5.4-2). Da es auch durch die Mahlung zu einem erhöhten Feinanteil und einer uneinheitlicheren Oberflächenstruktur der Laktose kommt, führt auch diese zu einer Vergrößerung

der spezifischen Oberfläche, die allerdings nicht ganz so groß ausfällt wie für die sprühgetrocknete Laktose.

5.4.2.3 Anomeres Verhältnis

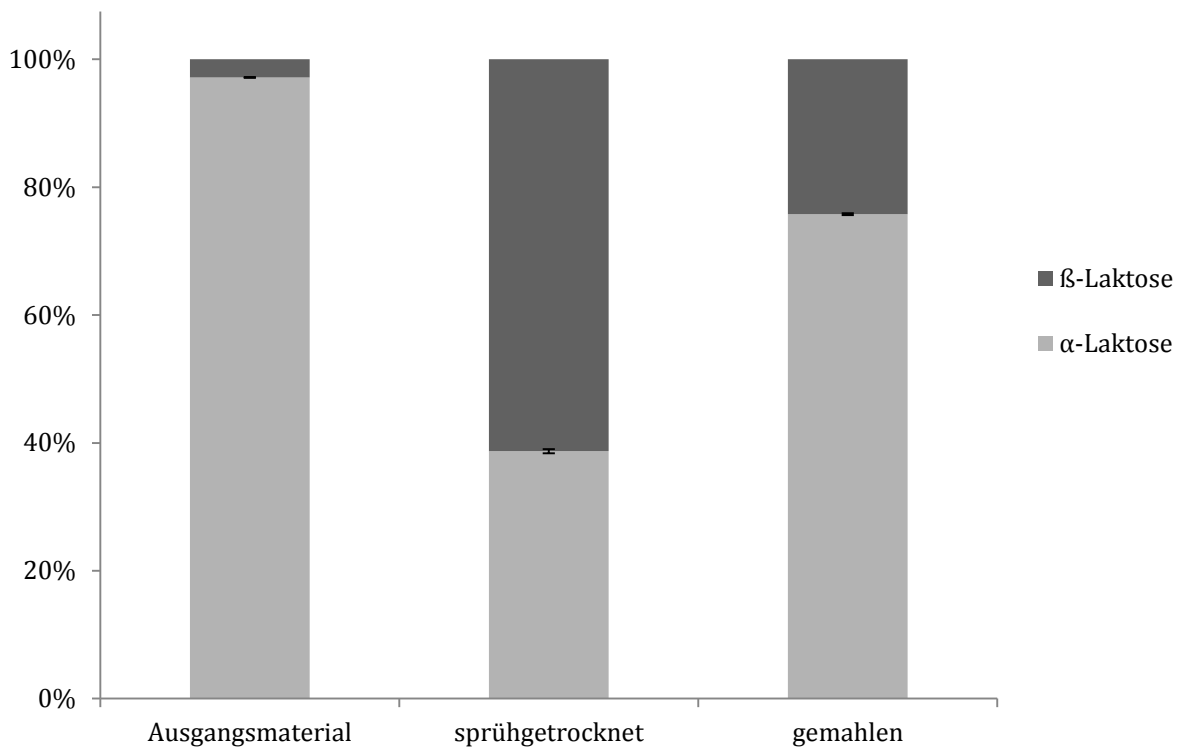


Abbildung 5.4-3: anomeres Verhältnis von unterschiedlich prozessiertem Inhalac 230

Abbildung 5.4-3 zeigt die Unterschiede im anomeren Verhältnis. Für das Inhalac 230 ergibt sich bei der Bestimmung des anomeren Verhältnisses ein β -Laktose-Anteil von $2,8 \pm 0,0\%$. Geringe Anteile an β -Laktose sind in α -Laktose-Monohydrat in der Regel enthalten. Das Europäische Arzneibuch schränkt in seiner Monographie Laktose-Monohydrat den β -Anteil, der in der Laktose vorhanden sein darf, nicht ein. Lediglich für das im Reagenzienteil aufgeführte α -Laktose-Monohydrat ist gefordert, dass der Anteil an α -Laktose-Monohydrat mindestens 97% beträgt.

Für die sprühgetrocknete Laktose ergeben sich ein β -Anteil von $61,3 \pm 0,3\%$ und ein Anteil an α -Laktose von $28,7 \pm 0,3\%$. Dies spiegelt nahezu das Mutarotationsgleichgewicht von Laktose in wässriger Lösung wieder und

entspricht den Erwartungen, nachdem die Laktoselösung vor der Sprühtrocknung, wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben, über Nacht zur Einstellung des Mutarotationsgleichgewichtes stehengelassen wurde. Auch durch die Mahlung ist eine Erhöhung des β -Anteils auf $24,2 \pm 0,2\%$ zu beobachten.

5.4.2.4 Wassersorptionskapazität

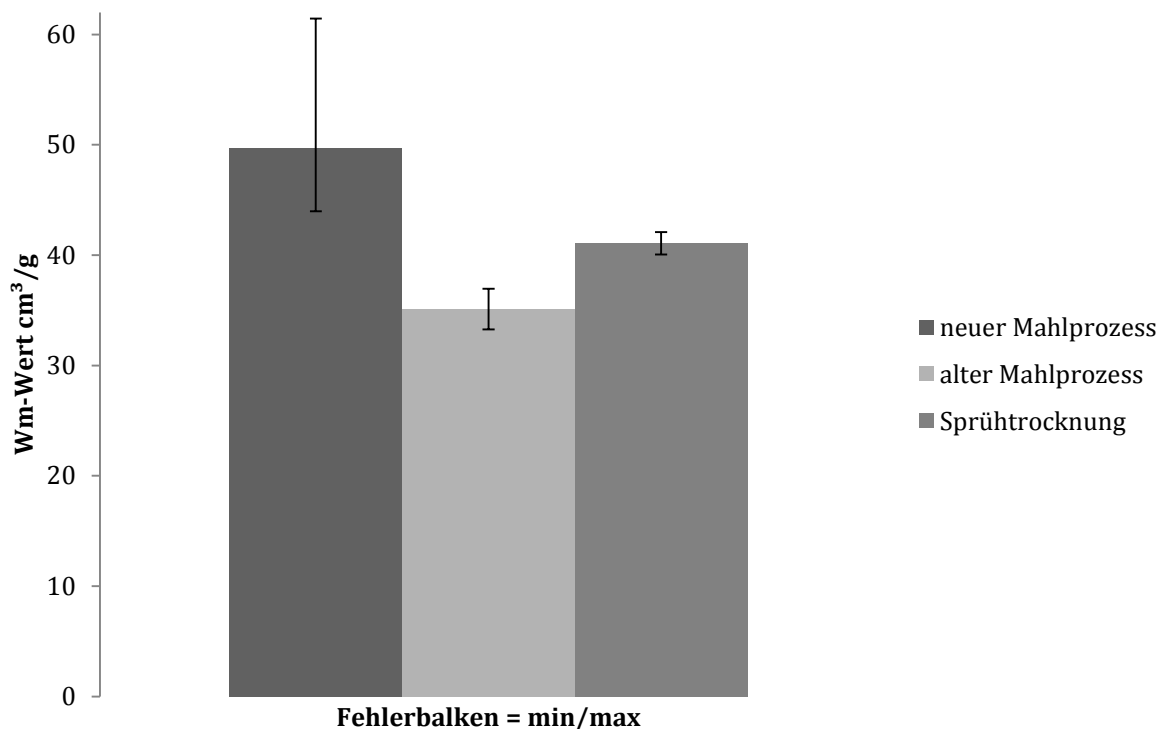


Abbildung 5.4-4: monomolekulare Kapazität unterschiedlich prozessierter Laktosen

Die Kapazitäten der monomolekularen Schicht (Abbildung 5.4-4), zeigen Unterschiede zwischen der Amorphisierungsprozessen. Mit einem mittleren Wert von $41,1 \text{ cm}^3/\text{g}$ für die sprühtrocknete ($n=2$) und $35,1 \text{ cm}^3/\text{g}$ für die gemahlenen amorphe Laktose ($n=2$) mittels des alten Mahlprozesses, ergibt sich ein Unterschied in der Kapazität der in monomolekular Schicht gebundenen Wassermenge zwischen den beiden Amorphisierungsprozessen, der jeweils auch so zu reproduzieren war. Mit dem neuen Mahlprozess ergab sich von Anfang an eine höhere Wassersorptionskapazität, im Mittel $49,7 \text{ cm}^3/\text{g}$, als für den alten Mahlprozess. Mit der Zeit stellte sich zudem heraus, dass Chargenvariabilitäten

einen großen Einfluss auf das Wassersorptionsverhalten der amophen Laktose zu haben scheinen. Einflüsse auf diese Unterschiede zwischen den gemahlenen Laktosechargen werden in Kapitel 5.4.3 dargestellt.

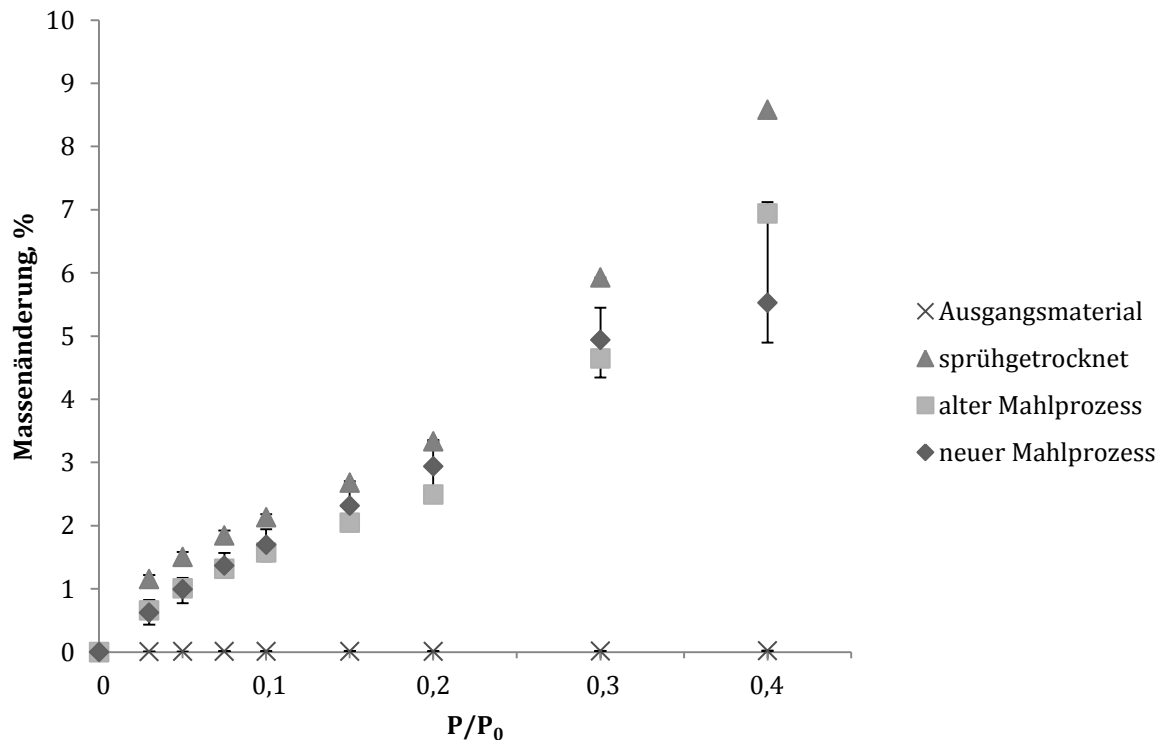


Abbildung 5.4-5: Sorptionsisothermen von unterschiedlich prozessiertem Inhalac 230
(Fehlerbalken = min/max)

Auch in den zugehörigen Sorptionsisothermen (Abbildung 5.4-5) sieht man einen Unterschied zwischen den unterschiedlich Prozessen zur Amorphisierung. Die amorphe Laktose zeigt eine deutliche Abhängigkeit des Wasseraufnahmevermögens vom Wasserdampfpartialdruck. Die Sorptionsisothermen verdeutlichen, dass die sprühgetrocknete Laktose ein höheres Wasseraufnahmevermögen aufweist, als die gemahlene amorphe Laktose. Dies kann mit den kleineren Partikel und der somit etwas größeren Oberfläche der sprühgetrockneten Partikel im Vergleich zur gemahlenen Laktose begründet werden. Gegen eine direkte Korrelation zwischen Wassersorptionsvermögen und der Oberfläche der amorphen Partikel spricht allerdings, dass bei den amorphen

Materialien keine reine Oberflächenadsorption stattfindet, sondern die Feuchtigkeit auch tiefer in das Material eindringt.

Die hohe Variabilität der Massenzunahme bei 40% relativer Feuchte der gemahlene Laktose aus dem neuen Mahlprozess hängt damit zusammen, dass es bei einigen Chargen bereits zu einer Rekristallisation und damit wieder zu einer Massenabnahme, bedingt durch die geringere Hygroskopizität der kristallinen Laktose gekommen ist.

Auffällig ist, dass die Sorptionsisotherme für die sprühgetrocknete Laktose am höchsten liegt, während sich beim Vergleich der W_m -Werte für die sprühgetrocknete Laktose der niedrigste Wert ergab. Dies wird damit zusammenhängen, dass für die Kalkulation des W_m -Wertes nur der Partialdampfdruckbereich von 0,03-0,2 genutzt wird. Der Vergleich der Sorptionsisothermen zeigt, dass die Kurven an sich nahezu parallel verlaufen. Die sprühgetrocknete Laktose nimmt allerdings im ersten Sorptionsschritt, bei der Erhöhung der relativen Feuchte von 0% auf 3% schon mehr Wasser auf als die gemahlene Laktose. Dieser Schritt wird aber bei der Berechnung der in monomolekularer Schicht gebundenen Wassermenge nicht berücksichtigt. Erst die folgende, weitere Wasseraufnahme bei stufenweiser Erhöhung der Feuchtigkeit geht in die Kalkulation ein.

5.4.3 Einflüsse auf das Wassersorptionsverhalten gemahlener Laktose

In Kapitel 5.4.2 konnte gezeigt werden, dass es Unterschiede im Wassersorptionsverhalten der amorphen Laktose gibt, die sich aber nicht eindeutig mit der Partikelgröße oder der Oberfläche der amorphen Laktose korrelieren lassen. Zudem variiert das Wassersorptionsverhalten unterschiedlicher mit dem gleichen Mahlprozess gemahlener Laktosechargen stark. Deshalb soll in diesem Kapitel aufgezeigt werden welche Einflussfaktoren ein Grund für das unterschiedliche Sorptionsverhalten der verschiedenen Laktosechargen aus dem gleichen Herstellungsprozess sein können.

5.4.3.1 Einfluss der Mahldauer

An erster Stelle soll hier der Einfluss der Mahldauer auf die Entwicklung des Wassersorptionsverhaltens der gemahlenen, amorphen Laktose dargestellt werden. Abbildung 5.4-6 zeigt die Entwicklung der monomolekularen Kapazität einer am Ende röntgendiffraktometrisch vollständig amorphen Laktosecharge über den Zeitraum von 10 Stunden Mahlung.

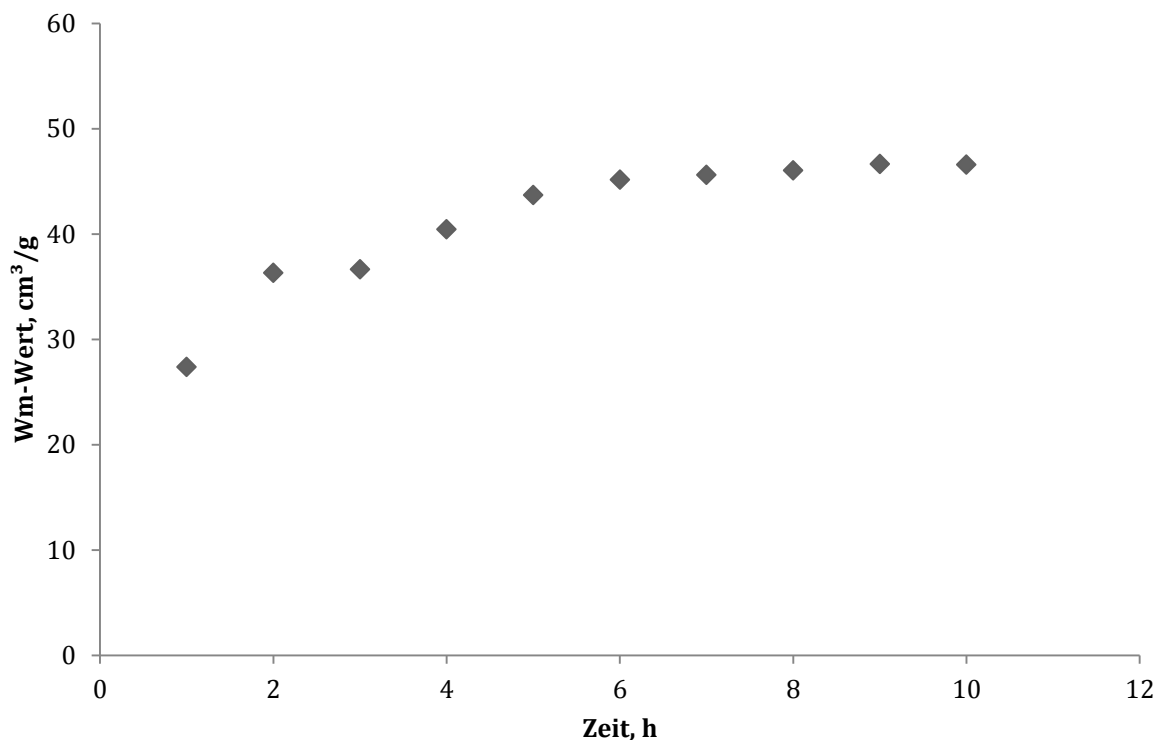


Abbildung 5.4-6: Entwicklung der monomolekularen Kapazität über 10 h Mahlung (n=1)

Auffällig ist, dass bereits nach einer Stunde Mahlung in der Planetenkugelmühle ein erheblicher amorpher Anteil in die Laktose eingebracht wird. Mit einem Wert von 26 cm³/g liegt die Kapazität der monomolekularen Schicht nach einer Stunde bereits über der Hälfte des Wertes der am Ende für die vollständig amorphe Laktose erhalten wurde (45 cm³/g). Der Kurvenverlauf flacht schnell ab und nimmt einen gleichbleibenden Verlauf an. Eine weiterführende Mahlung bis zu einem Maximum von 75 Stunden führte zu keiner weiteren Erhöhung des Wertes für die monomolekular gebundene Feuchtigkeitsschicht.

Abbildung 5.4-67 zeigt die dazugehörigen Sorptionsisothermen derselben Charge für die 10-stündige Mahlung.

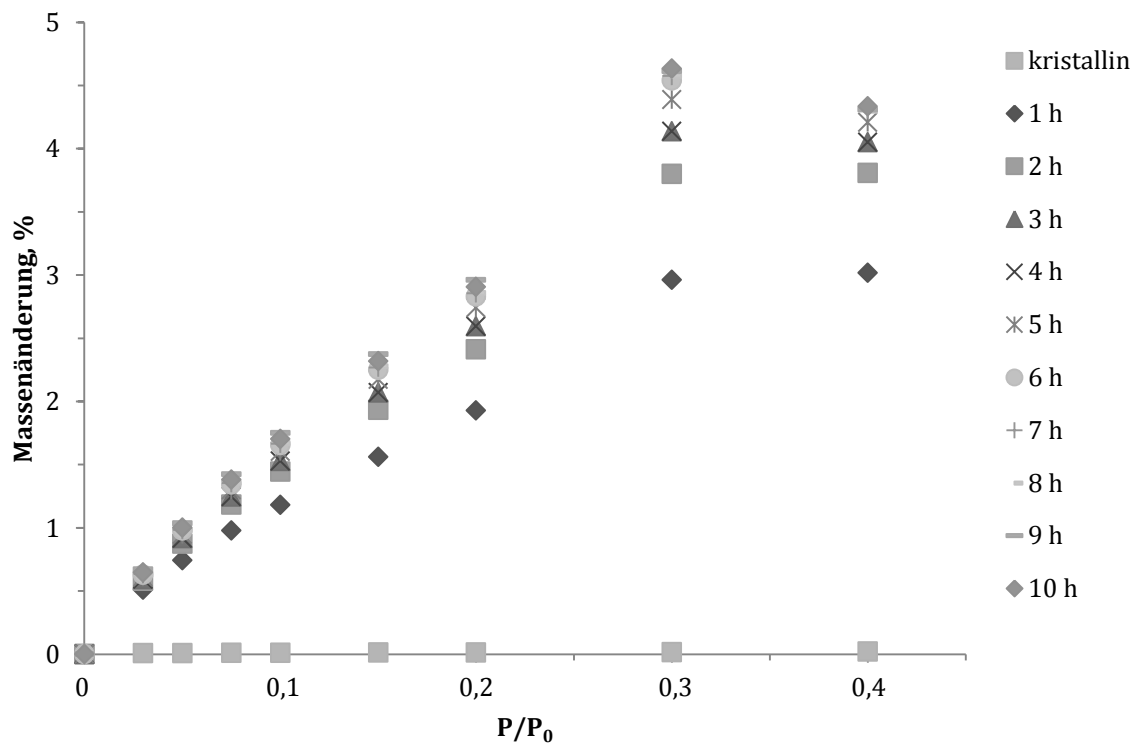


Abbildung 5.4-7: Entwicklung der Sorptionsisothermen über 10 h Mahlung (n=1)

Es ist auch anhand der Sorptionsisothermen erkennbar, dass es bereits nach einstündiger Mahlung zu einem sprunghaften Anstieg im Wassersorptionsverhalten der amorphen Laktose im Vergleich zur kristallinen Laktose kommt. Die sorbierte Wassermenge steigt mit zunehmender Mahldauer an, bis sie ab einer Prozesszeit von 6 Stunden zu stagnieren beginnt. In Übereinstimmung hiermit konnten ab einer Mahldauer von 7 Stunden keine Veränderungen im Röntgendiffraktogramm mehr beobachtet werden. Sobald keine kristallinen Anteile mehr vorhanden sind, führt eine verlängerte Mahldauer zu keiner weiteren Erhöhung der sorbierten Wassermenge. Der Abfall bei 40% relativer Feuchte ist auf eine beginnende Rekristallisation zurückzuführen.

5.4.3.2 Einfluss der Mahlung unter Stickstoffbegasung

Um auszuschließen, dass variierende Umgebungsbedingungen während der Mahlung die Wasseraufnahmekapazität der gemahlene Laktose beeinflussen, wurde für drei unterschiedliche Chargen gemahlener Laktose die Mahlkammer vor Beginn der Mahlung mit Stickstoff begast. Dadurch sollte ausgeschlossen werden, dass unterschiedliche Feuchtigkeitsgehalte in der Mahlkammer zu Unterschieden in der Wasseraufnahmefähigkeit der amorphen Laktosechargen führen. Abbildung 5.4-8 zeigt die Werte der in monomolekularer Schicht gebundenen Wassermenge für die drei unter Stickstoffatmosphäre gemahlene Laktosechargen.

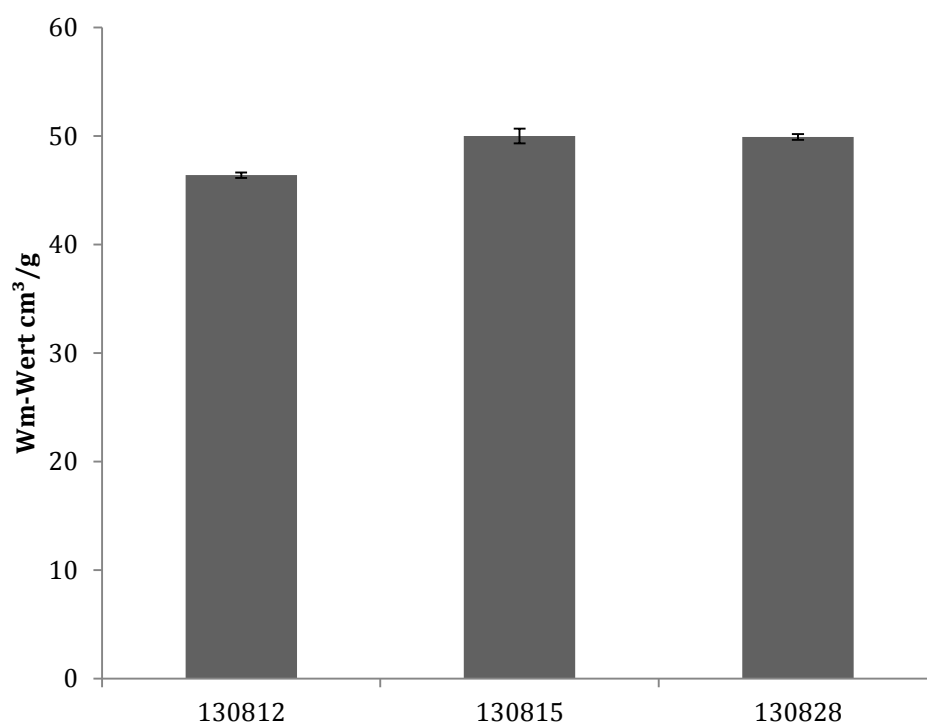


Abbildung 5.4-8: monomolekulare Kapazitäten drei unterschiedlicher Chargen amorpher Laktose, die unter Stickstoffatmosphäre gemahlen wurden

Die Werte schwanken für die drei Chargen gemahlener Laktose zwischen $46,4 \pm 0,3$ und $50,0 \pm 0,7 \text{ cm}^3/\text{g}$. Die Schwankungen sind nicht so ausgeprägt wie für die Gesamtheit aller gemahlene Laktosechargen. Da es aber bei den nicht unter Stickstoffatmosphäre gemahlene Chargen amorpher Laktose Chargen mit

deutlich höheren Werten gab, scheint auch die Mahlung unter Stickstoffatmosphäre die Variabilität im Wassersorptionsverhalten unterschiedlicher gemahlener Laktosechargen nicht zu beheben.

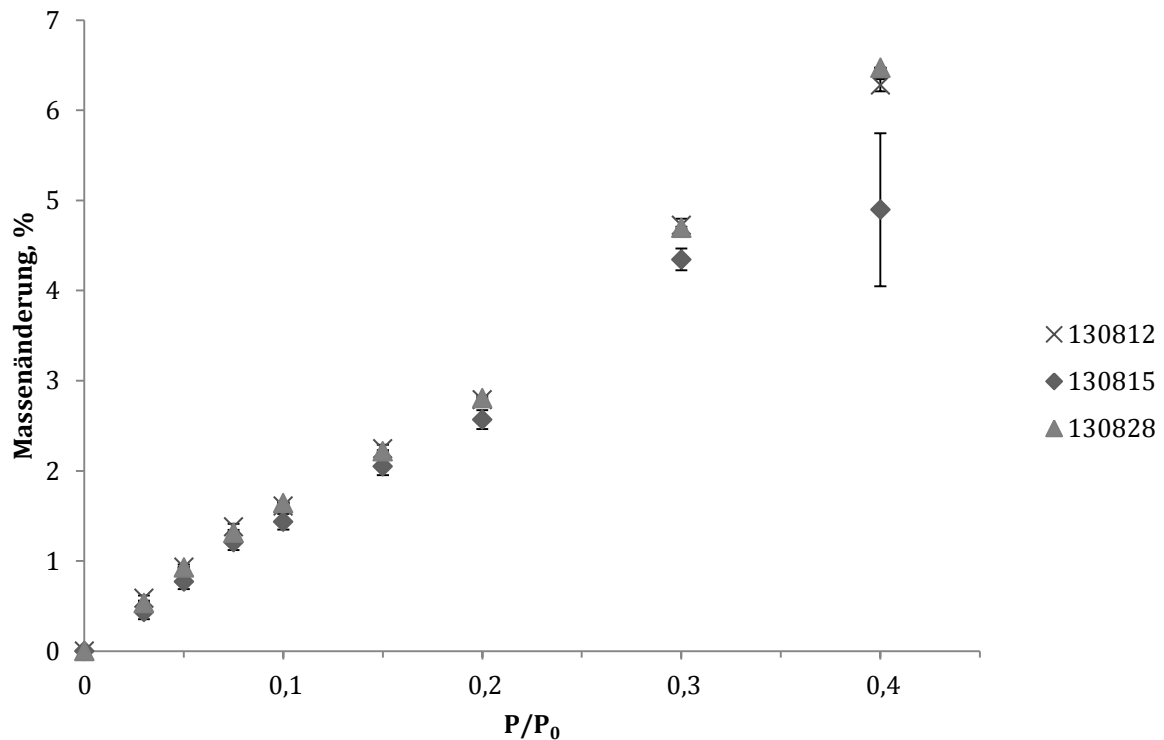


Abbildung 5.4-9: Sorptionsisothermen drei unterschiedlicher Chargen gemahlener, amorpher Laktose, die unter Stickstoffatmosphäre gemahlen wurden (Fehlerbalken = min/max)

Auch die Sorptionsisothermen zeigen einen leichten Unterschied zwischen den drei Laktosechargen, die unter Stickstoffbegasung gemahlen wurden (Abbildung 5.4-9). Auffällig hierbei ist, dass sich in den Sorptionsisothermen, die beiden Chargen unterscheiden, die den gleichen W_m -Wert aufweisen (Abbildung 5.4-8).

5.4.3.3 Einfluss des Messzyklusses und des Herstellungszeitpunktes

Abbildung 5.4-10 zeigt die Wasseraufnahmekapazität der unterschiedlichen gemahlenen Laktosechargen. Die Darstellung soll zum einen die Abhängigkeit der Werte vom Messzyklus und zum anderen den Einfluss des Herstellungszeitpunktes aufzeigen.

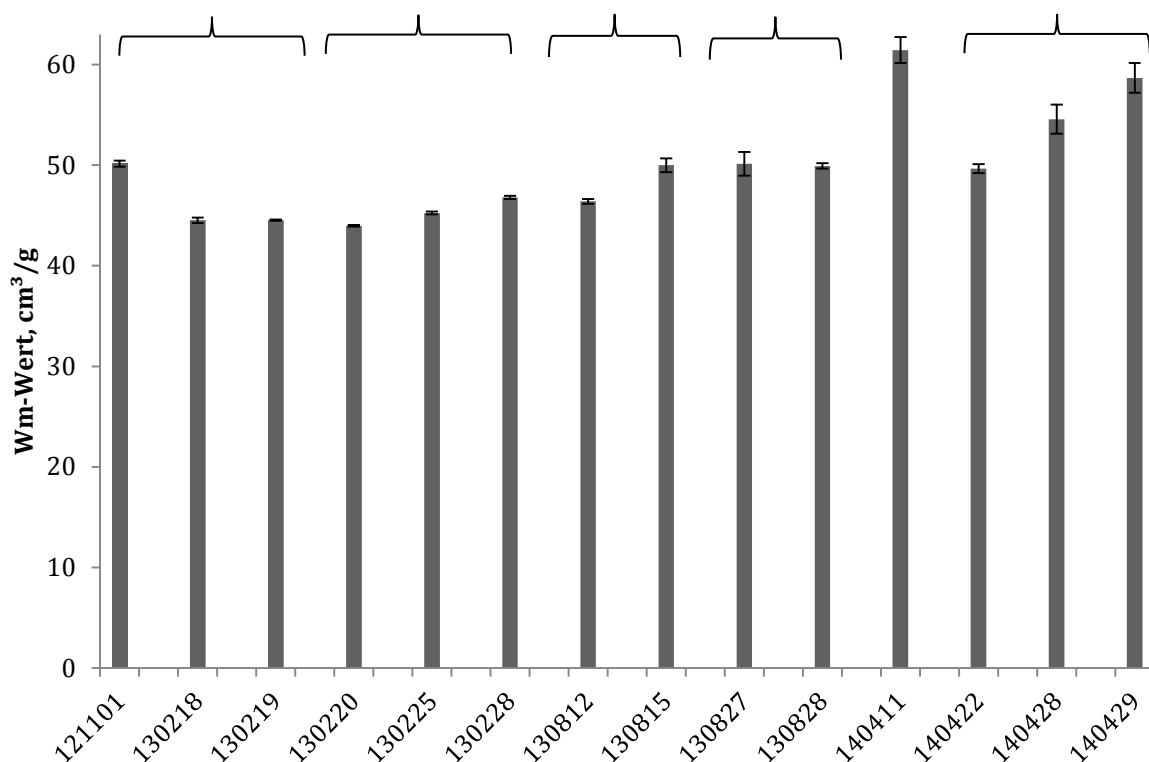


Abbildung 5.4-10: monomolekulare Kapazitäten der einzelnen gemahlenen Laktosechargen (geschweifte Klammern: die jeweiligen Chargen wurden im selben Zyklus in der DVS vermessen)

Es zeigt sich beim Vergleich der jeweiligen Chargen, die im selben Zyklus in der DVS vermessen wurden, dass die Variabilität in der Wasseraufnahmefähigkeit der unterschiedlichen gemahlenen Laktosechargen nicht vom verwendeten Messzyklus abhängt. In einem Zyklus wurden Chargen mit höheren und niedrigeren Wasseraufnahmekapazitäten simultan vermessen.

Ein leichter Trend lässt sich aber beim Blick auf den Herstellungszeitpunkt der gemahlenen Laktosechargen erkennen. Die Chargenbezeichnung gibt das jeweilige Herstellungsdatum an. Es lässt sich ein Trend dahingehend erkennen, dass Chargen, die im selben Zeitraum hergestellt wurden, sich untereinander

mehr ähneln als im Vergleich zu den restlichen Chargen. Die Ursache hierfür ist unbekannt, da die Bedingungen während der Mahlung möglichst konstant gehalten wurden. Es wurde immer dieselbe Mahldauer beibehalten und die Einwaage an Laktose zur Mahlung nicht variiert. Alle Mahlungen wurden im Kühlraum bei ca. 2°C durchgeführt, so dass auch Temperaturschwankungen als Ursache ausgeschlossen werden können. Der Einfluss variierender Luftfeuchtigkeit konnte durch die in Kapitel 5.4.3.2 gemachten Untersuchungen zur Mahlung unter trockener Stickstoffatmosphäre ausgeschlossen werden. Als eine Ursache für Chargenvariabilität hinsichtlich des Wassersorptionsverhaltens bleibt die Lagerung nach der Herstellung. Die amorphen Laktosechargen wurden direkt nach der Herstellung im Exsikkator trocken über Phosphorpentoxid gelagert. Der Einfluss der Lagerstabilität wird in Kapitel 5.4.3.4 noch einmal genauer untersucht. Ein Blick auf die in Abbildung 5.4-10 dargestellten Ergebnisse zeigt jedoch, dass zum Teil ältere Chargen höhere Wassersorptionskapazitäten als neuere Chargen aufweisen, obwohl sie im gleichen Zyklus, also zum selben Zeitpunkt in der DVS vermessen wurden. Eine beginnende Rekristallisation innerhalb der amorphen Laktose kann demnach auch keine hinreichende Erklärung sein.

Die Chargenvariabilitäten spiegeln sich auch in den Sorptionsisothermen wieder, wie schon an den Schwankungen der Werte für die gemahlene Laktose in Abbildung 5.4-11 ersichtlich wurde. Aufgrund der besseren Übersichtlichkeit werden an Stelle der Sorptionsisothermen der einzelnen gemahlenen Laktosechargen hier die prozentualen Massenänderungen bei der jeweiligen Feuchtigkeitsstufe in Form von Säulen aufgetragen.

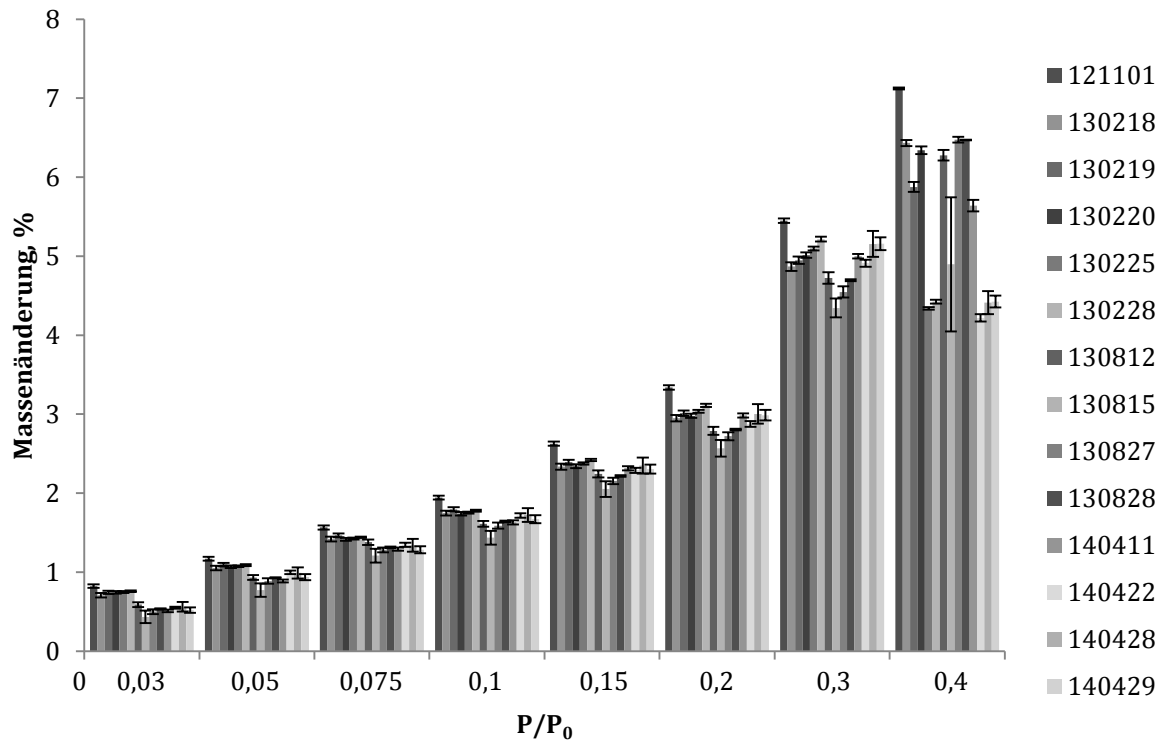


Abbildung 5.4-11: Massenänderung der einzelnen gemahlten Laktosechargen in Abhängigkeit von der relativen Feuchte

In der Wasseraufnahme der einzelnen gemahlten Laktosechargen bei unterschiedlichen Partialdampfdrücken spiegelt sich in jeder Feuchtigkeitsstufe eine Variabilität zwischen den einzelnen Chargen wieder. Hier fällt wiederum auf, dass sich die Höhe des Wasseraufnahmevermögens bei einer bestimmten relativen Feuchte nicht direkt mit dem W_m -Wert korrelieren lässt. Die zu beobachtenden starken Schwankungen bei 40% relativer Feuchte sind hier auf eine beginnende Rekristallisation bei einigen Chargen zurückzuführen. Dadurch ist die Masse am Ende der Feuchtigkeitsstufe bereits wieder abgesunken.

5.4.3.4 Einfluss der Lagerstabilität

Als letzter Punkt wurde untersucht inwieweit die Dauer der Lagerung der amorphen Laktose trotz der trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid einen Einfluss auf die Wasseraufnahmekapazität der amorphen Laktose hat. Abbildung 5.4-12 zeigt die Entwicklung der monomolekularen Kapazität einer gemahlene Laktosecharge über 9 Wochen.

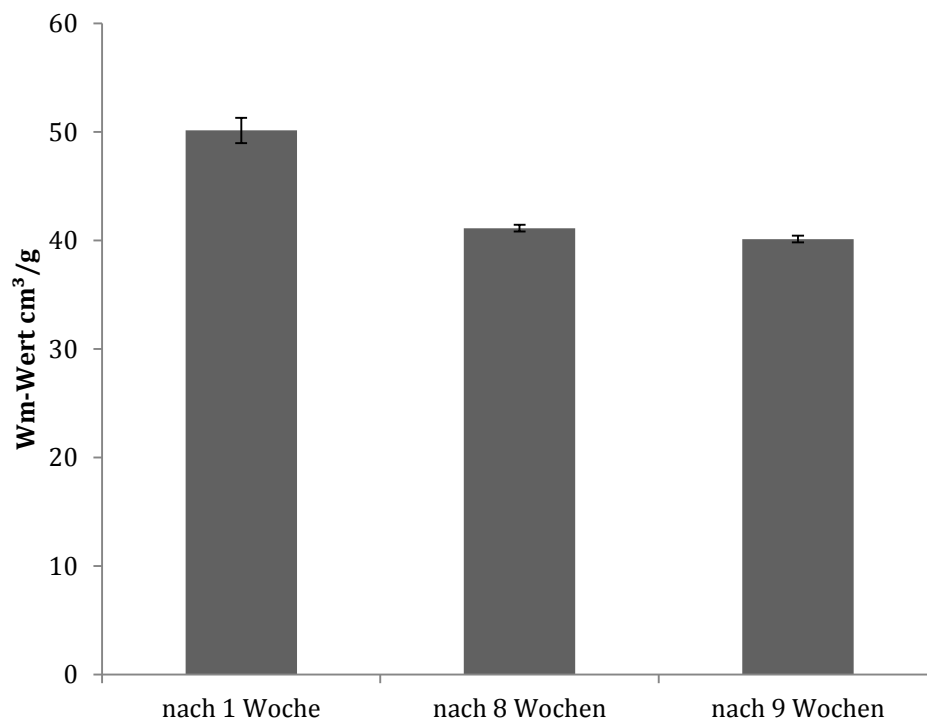


Abbildung 5.4-12: Entwicklung der monomolekularen Kapazität gemahlener, amorpher Laktose über 9 Wochen

Zu erkennen ist, dass der Ausgangswert nach einwöchiger trockener Lagerung der amorphen Laktose mit $50,1 \pm 1,2 \text{ cm}^3/\text{g}$ höher liegt als nach 8 und 9 Wochen. Nach dieser Zeit ist der Wert auf $41,1 \pm 0,3$ beziehungsweise $40,1 \pm 0,3 \text{ cm}^3/\text{g}$ abgesunken. Dies kann darin begründet liegen, dass es mit der Zeit zu einer Rekristallisation von Teilen des amorphen Materials gekommen ist.

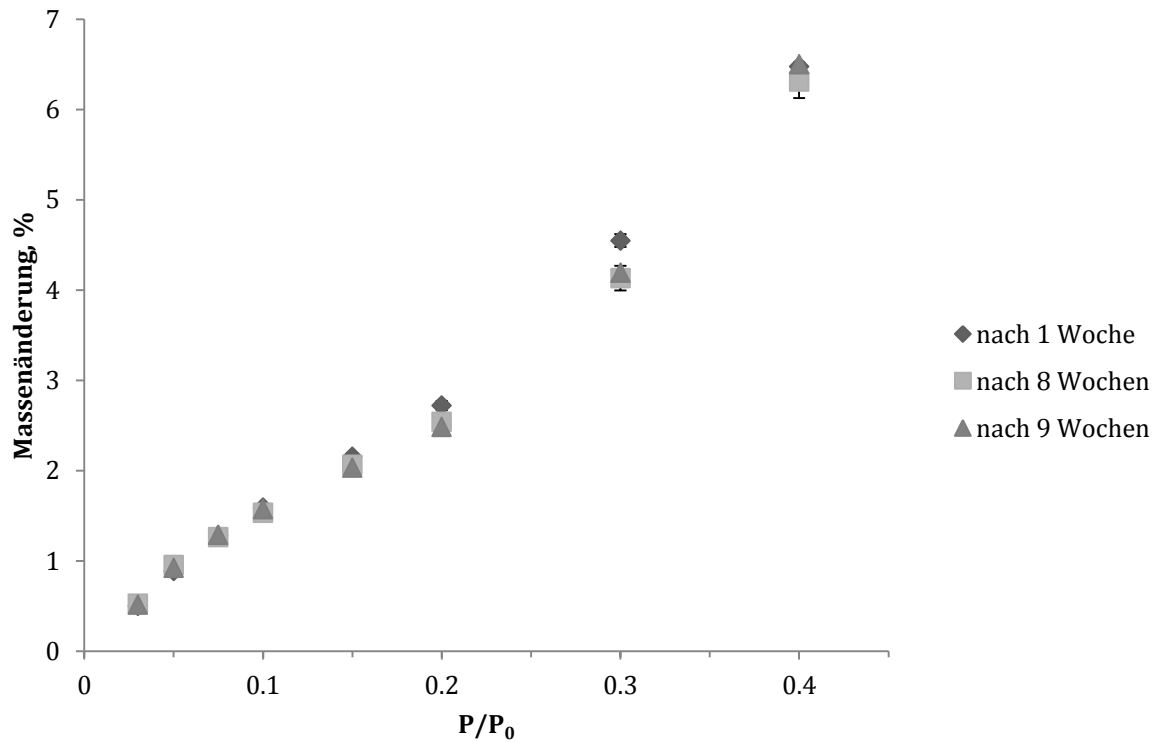


Abbildung 5.4-13: Entwicklung der Adsorptionsisothermen gemahlener, amorpher Laktose über 9 Wochen

Auch die Adsorptionsisothermen zeigen, dass sich die Wassersorptionsfähigkeit der amorphen Laktose mit zunehmender Lagerungsdauer verschlechtert (Abbildung 5.4-13). Während sich das Wassersorptionsverhalten im Bereich niedriger Partialdampfdrücke noch nicht unterscheidet, kommt es mit steigender relativer Feuchte zu einer stärkeren Abweichung der sorbierten Wassermenge.

5.4.4 Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es basierend auf der unterschiedlichen Hygroskopizität von kristalliner und amorpher Laktose möglich ist über das resultierende unterschiedliche Wasseraufnahmevermögen Unterschiede im amorphen Anteil in Laktose auch im niedrigen Konzentrationsbereich zu detektieren und zu quantifizieren. Dafür haben sich die beiden vorgestellten Auswertungsverfahren, sowohl die Kalkulation über die in monomolekularer Schicht gebunden Wassermenge mit Hilfe der BET-Gleichung, als auch die Kalkulation über die prozentuale Wasseraufnahme bei einer definierten Feuchte als geeignet erwiesen. Für die Kalkulation der amorphen Anteile über die Massenzunahme bei einer bestimmten Feuchtigkeit hat sich herausgestellt, dass bevorzugt eine höhere Feuchte verwendet werden sollte, damit auch bei niedrigen amorphen Konzentrationen die absolut aufgenommene Wassermenge hoch genug ist um Unterschiede zu erkennen und eine Quantifizierung zu ermöglichen. In den durchgeführten Versuchen hat sich 30% relative Feuchte als am geeignetsten erwiesen. Bei höherer Feuchte von 40% kam es teilweise schon zur beginnenden Rekristallisation der Proben. Für die Kalkulation des amorphen Anteils mittels BET-Gleichung ergab sich die beste Korrelation, wenn nur der Bereich zwischen 3% und 20% relativer Feuchte für die Kalkulation zugrunde gelegt wurde.

Es ergab sich sowohl für die sprühgetrocknete als auch für die gemahlene Laktose eine gute Korrelation zwischen zugesetztem und kalkuliertem amorphem Anteil. Für Proben mit unbekanntem amorphem Anteil besteht das Problem der Variabilität des Wasseraufnahmevermögens des komplett amorphen Standards. Der Vergleich zwischen sprühgetrockneter und gemahlener, amorpher Laktose ergab ein unterschiedliches Wasseraufnahmevermögen für beide Auswertungsverfahren. Basierend auf der Tatsache, dass es bei der amorphen Laktose nicht zu einer reinen Oberflächenadsorption des Wassers kommt, lässt sich dies aber nicht direkt über einen Einfluss der Partikelgröße oder der spezifischen Oberfläche begründen. Zudem zeigte sich auch für verschiedene Chargen

gemahlener Laktose mit der Zeit eine hohe Variabilität im Wasseraufnahmevermögen untereinander. Es konnte gezeigt werden, dass dies durch eine Alterung der amorphen Laktose zustande kommen kann. Deshalb wurde für die nachfolgenden Untersuchungen in dieser Arbeit die amorphe Laktose zeitnah hergestellt und für Pulvermischungen weiterverarbeitet. Die Alterung der amorphen Laktose kann jedoch nicht der einzige Grund für die Chargenvariabilität sein. Ein Einfluss der Mahldauer und der Feuchtigkeit in der Mahlkammer während des Prozesses konnte ausgeschlossen werden.

Es zeigte sich auf der anderen Seite aber anhand der Untersuchungen zu den Variabilitäten zwischen den gemahlenden Laktosechargen auch, dass die DVS sehr reproduzierbare Ergebnisse liefert. Dies ist auf der einen Seite an den geringen Abweichungen zwischen den einzelnen Dreifachbestimmungen erkennen und zeigt sich zum anderen darin, dass die Ergebnisse vom verwendeten Messzyklus und -zeitpunkt unabhängig sind.

Für die nachfolgende Kalkulation amorpher Anteile in dieser Arbeit wurde, nachdem Kalibriergeraden für die sprühgetrocknete und die gemahlene Laktose aus dem alten Mahlprozess erstellt worden waren, auf die Erstellung einer neuen Kalibriergerade mit Laktose aus dem neuen Mahlprozess verzichtet, da es nicht sinnvoll erschien mit einer beliebigen Charge eine Kalibrierung zu erstellen. Es schien vielmehr unter den gegebenen Umständen sinnvoller den Mittelwert des W_m -Wertes der neu gemahlenden Laktosechargen ($49,7 \text{ cm}^3/\text{g}$) zum Mittelwert der Laktosechargen aus dem alten Mahlprozess ($35,1 \text{ cm}^3/\text{g}$) ins Verhältnis zu setzen, was einen Faktor von 1,42 ergab, und unter Einbeziehung dieses Faktors die Kalkulation der amorphen Anteile durchzuführen.

6 Stabilitätsuntersuchungen interaktiver Pulvermischungen

6.1 Einleitung

Der nachfolgende Teil befasst sich mit dem Einfluss amorpher Anteile in Laktose auf die Stabilität von interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation in Abhängigkeit von der Lagerungsfeuchte und -dauer. Betrachtet wurden Pulvermischungen mit Budesonid oder Salbutamolsulfat, um den Einfluss eines hydrophoben und eines hydrophilen Wirkstoffes zu untersuchen. Zusätzlich wurden konzentrationsabhängige Einflüsse unter Verwendung von jeweils 0,4% und 4% Wirkstoff untersucht.

Hierfür wurden, wie in Kapitel 4.2.2 und 4.2.3 beschrieben, Vormischungen mit gemahlenem, amorphem Inhalac 230 und kristallinem Inhalac 230 hergestellt und in einem zweiten Mischschritt mit dem jeweiligen Wirkstoff versetzt. Die Pulver wurden über 12 Wochen bei 45% und 75% relativer Feuchte gelagert und die Stabilität anhand des Deagglomerationsverhaltens, das mit Hilfe des NGIs untersucht wurde, beurteilt. Zusätzlich wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zur Charakterisierung herangezogen.

Für die Stabilitätsstudie mit 4% Budesonid (Kapitel 6.3) und variierenden gemahlenen, amorphen Anteilen im Träger wurde Laktose verwendet, die nach dem alten Mahlprozess in der Pulverisette der Firma Fritsch gemahlen wurde. Für alle folgenden Stabilitätsstudien fand aufgrund des Defekts der Mühle Laktose aus dem neuen Mahlprozess mit der Planetenkugelmühle PM 100 der Firma Retsch Verwendung. Die Unterschiede zwischen den beiden Mahlprozessen sind in Kapitel 4.1.2 beschrieben. In der Partikelgröße der gemahlenen Laktose ergab sich kein Unterschied. Wie in Kapitel 5.4.2.4 beschrieben zeigte sich für die Laktose des alten Mahlprozesses ein etwas geringeres Wasseraufnahmevermögen als für die amorphe Laktose aus dem neuen Mahlprozess.

6.2 Charakterisierung der verwendeten Träger

Die Charakterisierung der Träger bezieht sich aufgrund der größten zu erwartenden Unterschiede auf den Vergleich zwischen dem rein kristallinen Inhalac 230 und die Veränderungen nach Zusatz von 5% gemahlener, amorpher Laktose.

6.2.1 Partikelgrößenverteilung

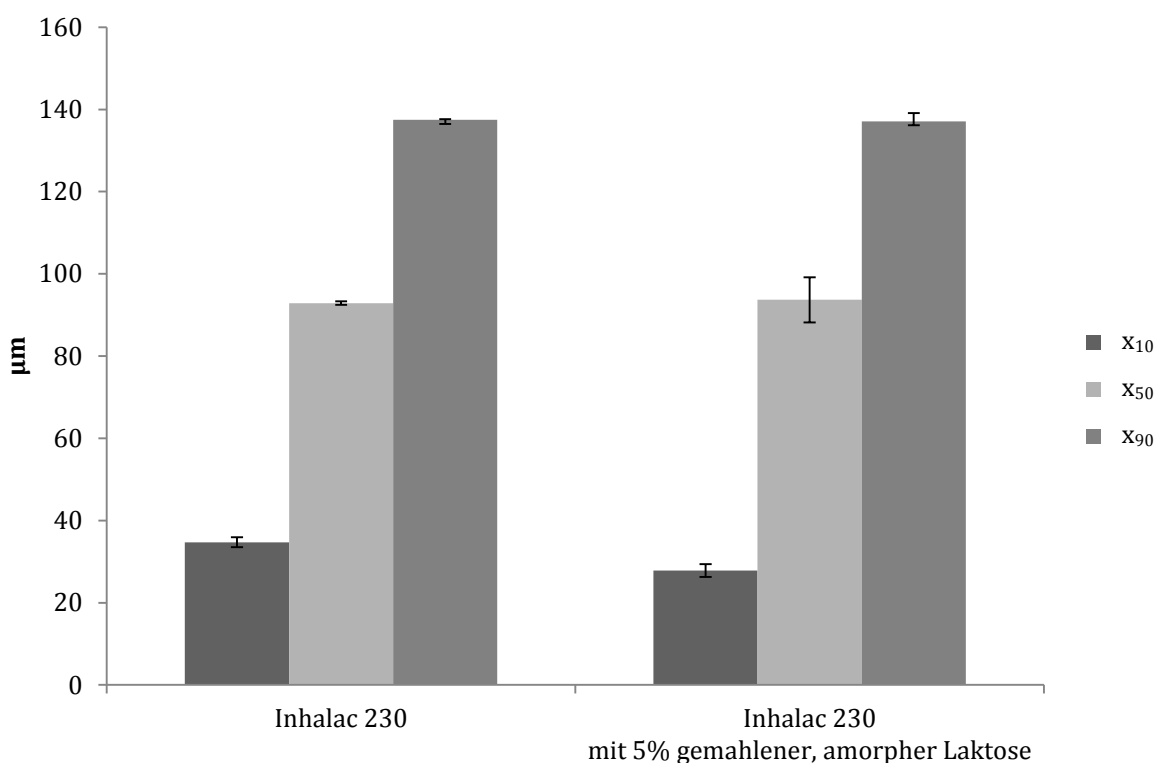
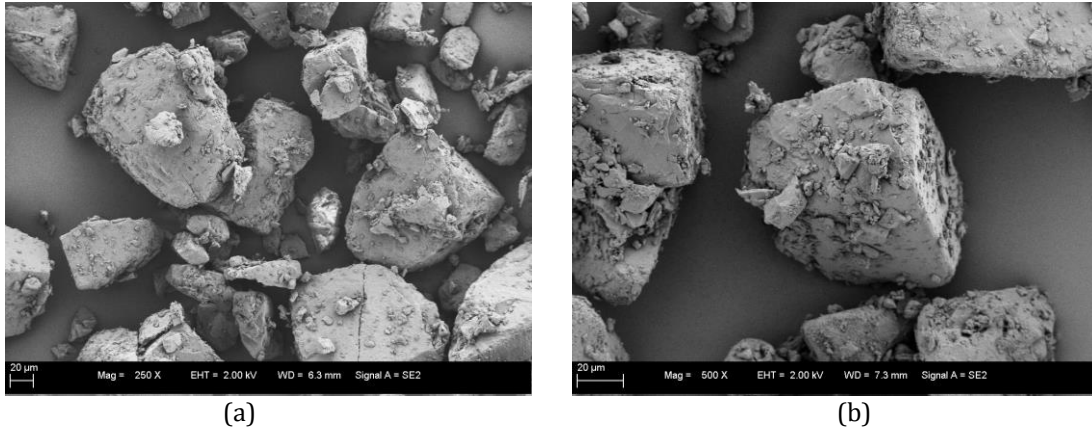


Abbildung 6.2-1: Kenngrößen der Partikelgrößen des kristallinen Inhalac 230 und des kristallinen Inhalac 230 nach Zusatz von 5% gemahlener, amorpher Laktose

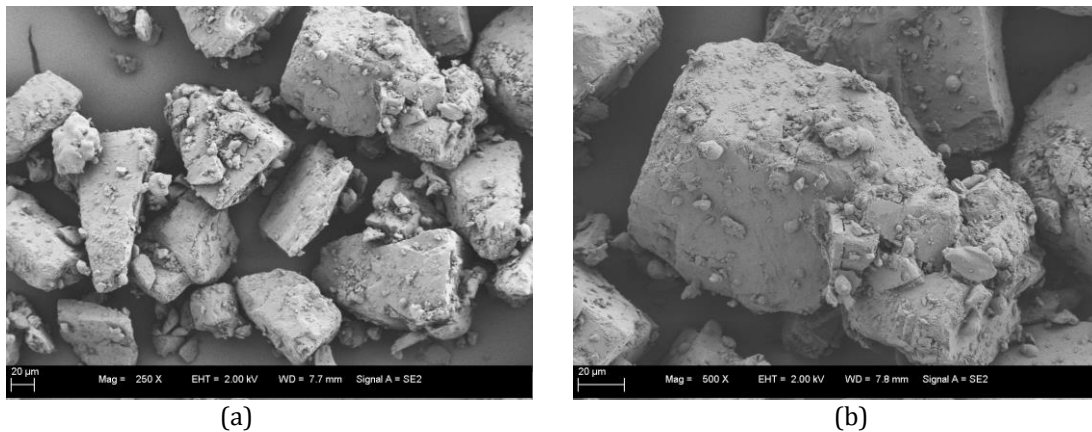
Der Vergleich der Partikelgrößenverteilungen des kristallinen Inhalac 230 und der Mischung aus 5% gemahlener, amorpher Laktose zeigt eine weitestgehend ähnliche Partikelgrößenverteilung (Abbildung 6.2-1). Der Zusatz der etwas feineren gemahlener, amorphen Laktose spiegelt sich in einer leichten Erniedrigung des x_{10} -Wertes der Mischung wieder. Dieser liegt nach Zusatz der

gemahlenen, amorphen Laktose mit $27,8 \pm 1,5 \mu\text{m}$ um etwa $7 \mu\text{m}$ von ausgehenden $34,7 \pm 1,2 \mu\text{m}$ niedriger.

6.2.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen



**Abbildung 6.2-2: REM-Aufnahmen des kristallinen Inhalac 230
(a: 250-fache Vergrößerung, b: 500-fache Vergrößerung)**



**Abbildung 6.2-3: REM-Aufnahmen von Inhalac 230 mit 5% gemahlener, amorpher Laktose
(a: 250-fache Vergrößerung, b: 500-fache Vergrößerung)**

Die Abbildungen 6.2-2 und 6.2-3 zeigen rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des rein kristallinen Inhalac 230 und einer Vormischung aus kristallinem Inhalac 230 und 5% gemahlener, amorpher Laktose im Vergleich. Dadurch, dass die gemahlene, amorphe Laktose auch nach der Mahlung noch eine relative große Partikelgröße besitzt, ist auf den Bildern keine deutliche Erhöhung des Feinanteils auf der Oberfläche der Trägerlaktose nach Zusatz der gemahlenen, amorphen Laktose zu erkennen. Es zeigt sich, dass auch die Oberfläche des kristallinen Inhalac 230, ohne Zusatz der gemahlenen Laktose,

nicht frei von feineren Laktosepartikeln ist. Nach Zusatz der gemahlenden Laktose lassen sich einige rundere Partikel erkennen, die möglicherweise der gemahlenden Laktose zuzuordnen sind.

6.2.3 Einfluss der Lagerung auf die amorphen Anteile

Um in den folgenden Stabilitätsstudien Aussagen darüber treffen zu können, zu welchem Zeitpunkt die amorphen Anteile in der Trägerlaktose rekristallisieren, wurde der Träger mit 5% zugesetztem amorphem Anteil bei 45% und 75% relativer Feuchte eingelagert und nach 24 Stunden und 7 Tagen in der DVS vermessen.

Abbildung 6.2-4 zeigt die dazugehörigen Sorptionsisothermen.

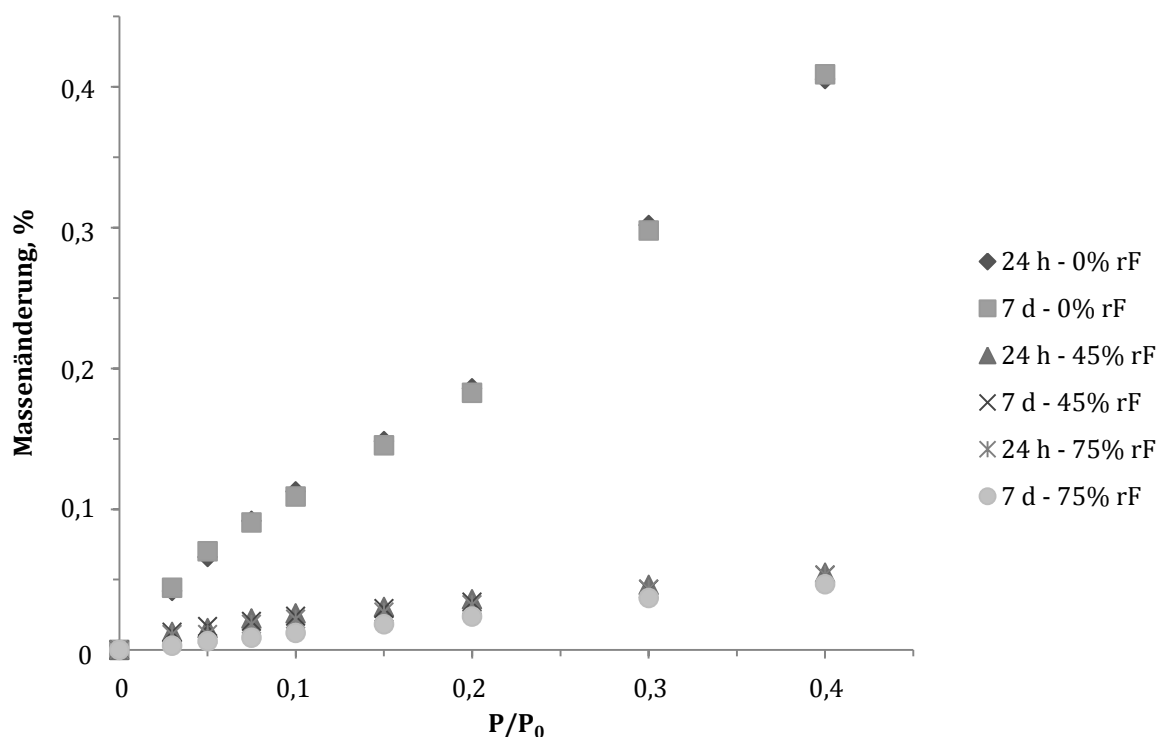


Abbildung 6.2-4: Entwicklung der Sorptionsisotherme von kristallinem Inhalac 230 mit 5% gemahlener, amorpher Laktose in Abhängigkeit von der Lagerungsfeuchte und -dauer

Hier wird deutlich, dass bei einwöchiger trockener Lagerung der Laktose mit 5% amorphem Anteil über Phosphorpentoxid keine Änderung im Sorptionsverhalten von Wasser zu verzeichnen ist. Dies zeigt, dass die amorphen Anteile in der Laktose unter diesen Lagerungsbedingungen stabil sind und nicht rekristallisieren. Dennoch wurde stets darauf geachtet, dass die amorphe Laktose möglichst frisch hergestellt und zeitnah zu Pulvermischungen verarbeitet wurde, um rekristallisierte Anteile in den Proben zu vermeiden. Um den Einfluss einer vorangehenden Lagerung über Phosphorpentoxid auf das Deagglomerationsverhalten zu vermeiden, wurden Teile der Pulvermischungen direkt nach der Herstellung bei der entsprechenden Feuchte eingelagert.

Bei Betrachtung der Kurven nach Lagerung der Laktose bei 45% und 75% relativer Feuchte, wird ersichtlich, dass diese nur noch ein geringes Wasseraufnahmevermögen besitzen. Es kommt sowohl bei 75% als auch bei 45% relativer Feuchte bereits nach 24-stündiger Lagerung zu einer Rekristallisation der amorphen Anteile in der Laktose. Nach 7-tägiger Lagerung zeigt sich kein weiteres Absinken der Kurven, so dass davon ausgegangen werden kann, dass sowohl bei 75% als auch bei 45% relativer Feuchte eine 24-stündige Lagerung zur kompletten Rekristallisation der amorphen Anteile in der Laktose geführt hat.

6.3 Interaktive Pulvermischungen mit 4% Budesonid

6.3.1 Aerodynamische Charakterisierung

In Abbildung 6.3-1 ist die Entwicklung der Feinpartikelfractionen für die vier interaktiven Pulvermischungen mit 4% Budesonid und variierenden amorphen Anteilen im Träger über die 12-wöchige Lagerung bei 45% relativer Feuchte dargestellt.

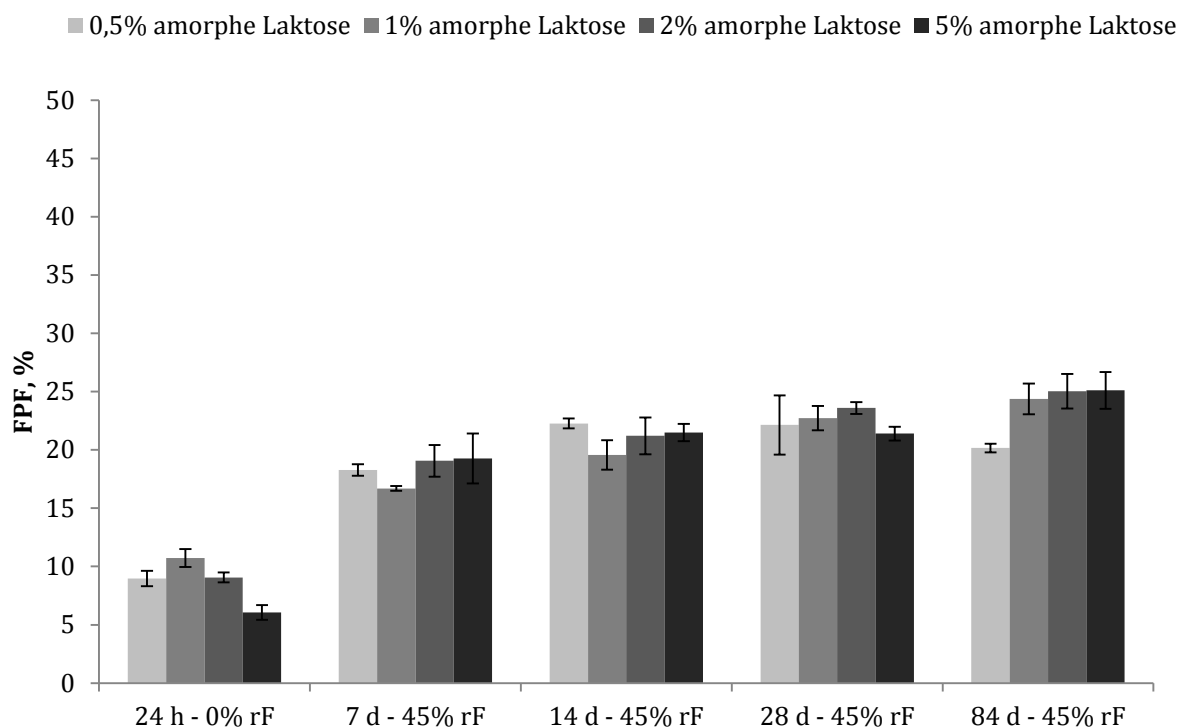


Abbildung 6.3-1: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 4% Budesonid bei Lagerung für 12 Wochen bei 45% rF

Nach 24-stündiger Lagerung der vier Pulvermischungen mit unterschiedlichen Konzentrationen an amorpher Laktose unter trockenen Bedingungen über Phosphorpentoxid ergibt sich eine sehr geringe Feinpartikelfraktion von unter 11%. Ein Vergleich dieser Anfangswerte mit den Feinpartikelfractionen nach Lagerung für 7 Tage bei 45% relativer Feuchte zeigt einen sprunghaften Anstieg der Werte. Die Feinpartikelfractionen liegen für alle vier Pulvermischungen mit knapp 20% auf einem ähnlichen Niveau. Bei der weiteren

Betrachtung der Entwicklung der Feinpartikelfractionen über 12 Wochen ist zu erkennen, dass es zu einem leichten, stetigen Anstieg der Feinpartikelfractionen kommt, je länger die Pulvermischungen der feuchteren Lagerung bei 45% relativer Feuchte ausgesetzt sind. Insgesamt ist kein signifikanter Unterschied zwischen den Pulvermischungen mit unterschiedlichen, amorphen Anteilen zu verzeichnen.

Ein grundsätzlich ähnliches Bild ergibt sich für die 12-wöchige Lagerung der vier Pulvermischungen bei 75% relativer Feuchte (Abbildung 6.3-2).

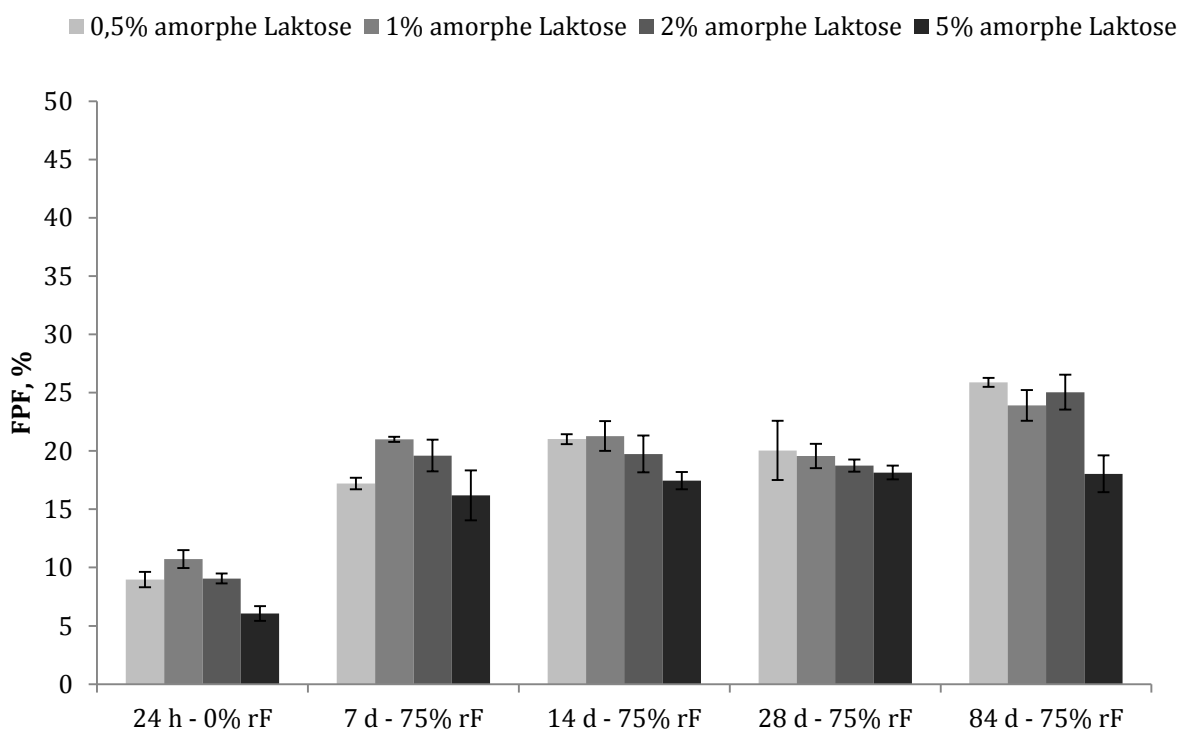


Abbildung 6.3-2: Feinpartikelfractionen interaktiver Pulvermischung mit 4% Budesonid bei Lagerung für 12 Wochen bei 75% rF

Im Vergleich zur 24-stündigen Lagerung über Phosphorpentoxid ergibt sich im Vergleich zur 7-tägigen Lagerung bei 75% relativer Feuchte wiederum ein Anstieg in der Feinpartikelfraction. Es zeigt sich ein Trend dahingehend, dass der niedrigste Wert für die interaktive Pulvermischung mit dem höchsten amorphen Anteil resultiert. Ein signifikanter Unterschied ist aber nur nach 84 Tagen zu verzeichnen. Zudem ist der Anstieg der Feinpartikelfraction über die Lagerungszeit nicht so deutlich ausgeprägt wie für die Lagerung bei 45%

relativer Feuchte. Erst nach 12 Wochen kommt es zu einer signifikanten Zunahme in der Feinpartikelfraktion. Die Pulvermischung mit 5% amorphen Anteil ist hiervon allerdings nicht betroffen.

In den Vorversuchen zum Rekristallisationsverhalten der Laktosevormischung mit 5% gemahlener, amorpher Laktose und kristallinem Inhalac 230 konnte gezeigt werden, dass sowohl bei 45% als auch bei 75% relativer Feuchte die amorphen Anteile in der Trägerlaktose bereits nach 24-stündiger Lagerung rekristallisiert sind (Kapitel 6.2.3). Somit scheint die Rekristallisation der amorphen Anteile in der Laktose, unabhängig von der verwendeten amorphen Konzentration, keine negativen Auswirkungen auf die Pulverdeagglomeration der vorstehenden interaktiven Pulvermischungen zu haben. Vielmehr scheint die Feuchtigkeit das Deagglomerationsverhalten unabhängig vom amorphen Anteil in der Trägerlaktose über die Lagerungsdauer hinweg zu verbessern. Diese Ergebnisse werden in Kapitel 6.3.3 genauer diskutiert.

6.3.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Für die Darstellung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen werden hier Aufnahmen einer interaktiven Pulvermischung mit 4% Budesonid und rein kristallinem Inhalac 230 mit der interaktiven Pulvermischung mit dem höchsten Anteil von 5% gemahlener, amorpher Laktose miteinander verglichen. Für beide Pulvermischungen werden die Aufnahmen nach trockener Lagerung bei 0% relativer Feuchte mit Aufnahmen nach 7-tägiger Lagerung bei 75% relativer Feuchte verglichen.

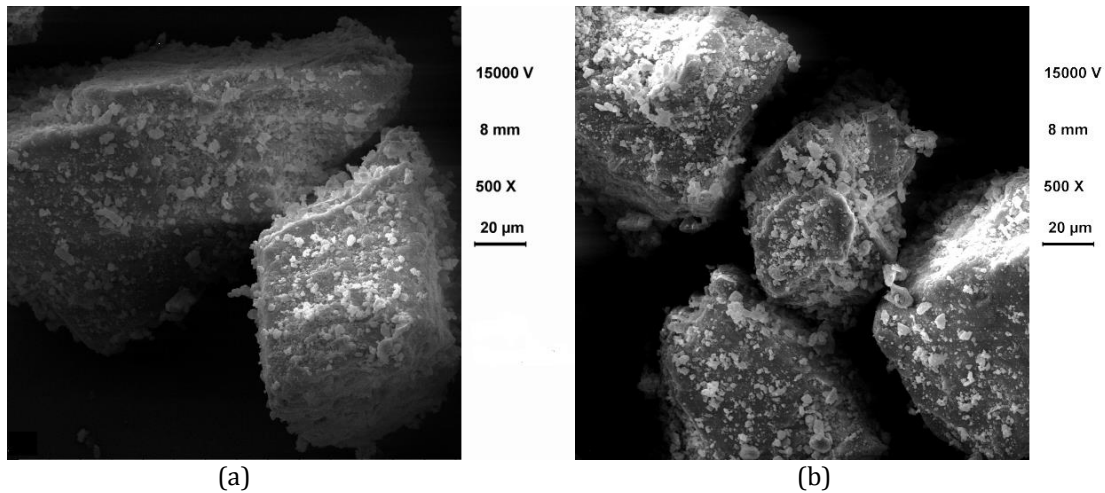


Abbildung 6.3-3: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% Budesonid und Inhalac 230 (a: 0% rF, b: 75% rF)

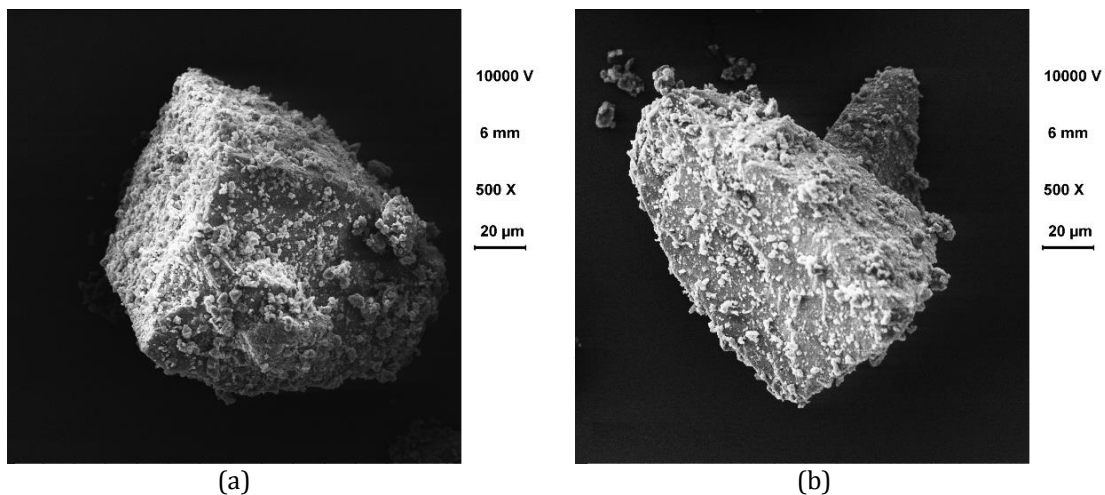


Abbildung 6.3-4: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% Budesonid und 5% gemahlener, amorpher Laktose (links: 0% rF, rechts: 75% rF)

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, unabhängig vom amorphen Anteil in der Trägerlaktose, eine durch feine Partikel abgesättigte Oberfläche der groben Laktosepartikel (Abbildungen 6.3-3 und 6.3-4). Dies ist durch die hohe Konzentration von 4% Budesonid in beiden Pulvermischungen bedingt. Ein Vergleich der Bilder zwischen trockener Lagerung bei 0% relativer Feuchte und der Lagerung bei 75% relativer Feuchte lässt keine Unterschiede erkennen. Der Zusatz von 5% der gemahlenden, amorphen Laktose lässt sich auf den Bildern nicht erkennen und führt auch nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte nicht zu einer erkennbar stärkeren Agglomeration der Wirkstoffpartikel auf der Laktoseoberfläche.

6.3.3 Diskussion der Ergebnisse

Für die Interpretation der erhaltenen Ergebnisse muss der Einfluss der unterschiedlichen in Kapitel 2.1.3.1 beschriebenen interpartikulären Kräfte in Pulverformulierungen betrachtet werden. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Lagerungsfeuchten auf die Pulver werden der Einfluss auf die elektrostatischen Kräfte und die feuchtebedingten Kapillarkräfte im Vordergrund stehen. Auf der einen Seite kommt es mit steigender relativer Feuchte zur Ausbildung von Kapillarkräften, die die Stärke der Bindung zwischen Wirkstoff und Träger erhöhen. Demgegenüber steht eine Verringerung der elektrostatischen Kräfte mit steigender Feuchte, durch die es zu einer besseren Ableitung der Ladungen kommt (Zeng et al., 2001a).

Am auffälligsten zeigt sich bei den hier untersuchten Pulvermischungen der sprunghafte Anstieg der Feinpartikelfractionen im Vergleich zwischen der trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid und der sich anschließenden feuchteren Lagerung. Übereinstimmende Erkenntnisse sind in einer Studie von Harjunen et al. (2003) zu finden. Sie konnten ebenfalls zeigen, dass sich die Feinpartikelfractionen interaktiver Pulvermischungen nach einmonatiger Lagerung bei 75% relativer Feuchte leicht erhöhen. Die Autoren begründen diese Beobachtungen über den verbesserten Abbau elektrostatischer Kräfte bei höherer relativer Feuchte. Der in der vorliegenden Arbeit beobachtete Anstieg der Feinpartikelfractionen im Vergleich zwischen der anfänglich trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid und der sich daran anschließenden feuchteren Lagerung bei 45% beziehungsweise 75% relativer Feuchte lässt sich ebenso hierüber erklären. In Kapitel 6.3.4 werden weitergehende Untersuchungen zum Effekt der trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid vorgestellt. In diesem Zusammenhang wird der Einfluss elektrostatischer Ladungen auf das Deagglomerationsverhalten interaktiver Pulvermischungen in Abhängigkeit von der relativen Feuchte diskutiert. Aus dem Grund soll an dieser Stelle nicht detaillierter darauf eingegangen werden, sondern lediglich der Einfluss der Lagerung bei 45% und 75% relativer Feuchte diskutiert werden.

Price et al. (2002) haben mit der Rasterkraftmikroskopie bei unterschiedlichen Feuchten, im Bereich von 15% bis 75%, die notwendigen Energien zur Separation des Wirkstoffs von der Trägerlaktose gemessen. Für das hydrophile Salbutamolsulfat zeigte sich nur ein geringer Anstieg in den Separationsenergien bis zu einer relativen Feuchte von 60% mit einem darauf folgenden sprunghaften Anstieg bei 75% relativer Feuchte. Demgegenüber zeigte sich für Pulvermischungen mit Budesonid und Laktose ein nahezu linearer Anstieg in der Separationsenergie über den gesamten betrachteten Feuchtigkeitsbereich. Zudem ist dort für das budesonidhaltige Pulver zu beobachten gewesen, dass gerade bei niedrigerer Feuchte der Unterschied in der benötigten Separationsenergie deutlicher ausgeprägt ist. Dies wird darüber begründet, dass sich um das Budesonid aufgrund seines hydrophoben Charakters keine einheitliche Feuchtigkeitsschicht ausbildet. Im Vergleich zu hydrophilen Stoffen kommt es hierbei schneller beziehungsweise schon bei niedrigerer Feuchte zur Ausbildung eines Flüssigkeitsmeniskus zwischen dem Budesonid und der Laktose. Dies erklärt auch die insgesamt geringen Feinpartikelfractionen der in der vorliegenden Arbeit untersuchten budesonidhaltigen interaktiven Pulvermischungen und die geringen Unterschiede zwischen der Lagerung bei 45% und 75% relativer Feuchte. Wenn es schon bei geringerer Feuchte zur Ausbildung von Feuchtigkeitsmenisken zwischen der Laktose und dem Budesonid, beziehungsweise auch zwischen den einzelnen Wirkstoffpartikeln kommt, hat eine Erhöhung der Lagerungsfeuchte keinen weiteren Effekt auf die Deagglomeration.

Auch Young et al. (2003) konnten zeigen, dass die Entwicklung der Feinpartikelfraktion von Inhalationspulvern entscheidend von den Eigenschaften des verwendeten Wirkstoffes abhängig ist. Für den hydrophobesten der dort verwendeten Wirkstoffe, das Triamcinolonacetonid, ließ sich ebenso wie in den anderen Studien für das Budesonid zeigen, dass die Feinpartikelfraktion einen nur leichten, aber signifikanten, Anstieg mit steigender relativer Feuchte zeigt. Die Feinpartikelfractionen für hydrophilere Arzneistoffe nahmen mit zunehmender relativer Feuchte hingegen ab.

Es lässt sich zusammenfassend feststellen, dass bei Betrachtung der Lagerung budesonidhaltiger interaktiver Pulvermischungen in Abhängigkeit von der Feuchte das resultierende Deagglomerationsverhalten durch ein Zusammenspiel von elektrostatischen Kräften und Kapillarkräften gekennzeichnet ist. Mit steigender relativer Feuchte kommt es im Allgemeinen zu einer Verringerung der elektrostatischen Kräfte und einer Zunahme der Kapillarkräfte. Der Einfluss von Kapillarkräften bei höherer Feuchte macht sich vor allem bei hydrophilen Substanzen bemerkbar. Da es sich beim hier verwendeten Budesonid um einen hydrophoben Wirkstoff handelt, macht sich der Einfluss von Kapillarkräften nur geringfügig bemerkbar. Im Vordergrund steht die Verringerung elektrostatischer Kräfte, die mit zunehmender relativer Feuchte leichter abgebaut werden können. Dadurch verbessert sich das Deagglomerationsverhalten der Pulvermischungen entscheidend. Diese Beobachtung wird im folgenden Kapitel (Kapitel 6.3.4) weitergehender untersucht und diskutiert.

Dazu passt auch der beobachtete leichte Anstieg in der Feinpartikelfraktion über die Lagerungszeit. Die durch den Mischprozess eingebrachten elektrostatischen Ladungen werden aufgrund des hydrophoben Charakters des Budesonids nicht sofort, sondern erst über einen längeren Zeitraum vollständig abgebaut. Die Ladungen können durch die unzureichende Benetzbarkeit des Budesonids mit Wasser nicht so schnell abfließen.

Ein deutlicher Einfluss der unterschiedlichen amorphen Anteile auf das Deagglomerationsverhalten konnte an dieser Stelle nicht gezeigt werden.

6.3.4 Untersuchung des Einflusses der Lagerung interaktiver Pulvermischungen über Phosphorpentoxid

Im Folgenden wurde der in Kapitel 6.3.1 beobachtete Einfluss der trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid auf das Deagglomerationsverhalten von interaktiven Pulvermischungen untersucht. Dazu wurde eine interaktive Pulvermischung mit kristallinem Inhalac 230 als Träger und 4% Budesonid hergestellt. Es ergab sich aus den vorangegangenen Ergebnissen die Fragestellung, ob die beobachtete starke Zunahme in der Feinpartikelfraktion zwischen 24-stündiger und 7-tägiger Lagerung primär von der Lagerungszeit oder der Lagerungsfeuchte abhängig ist. Zur Untersuchung des Einflusses der Lagerungszeit bei trockener Lagerung wurden die Feinpartikelfractionen der Pulvermischung bei Lagerung über Phosphorpentoxid nach 24 Stunden und nach 7 Tagen untersucht (Abbildung 6.3-5).

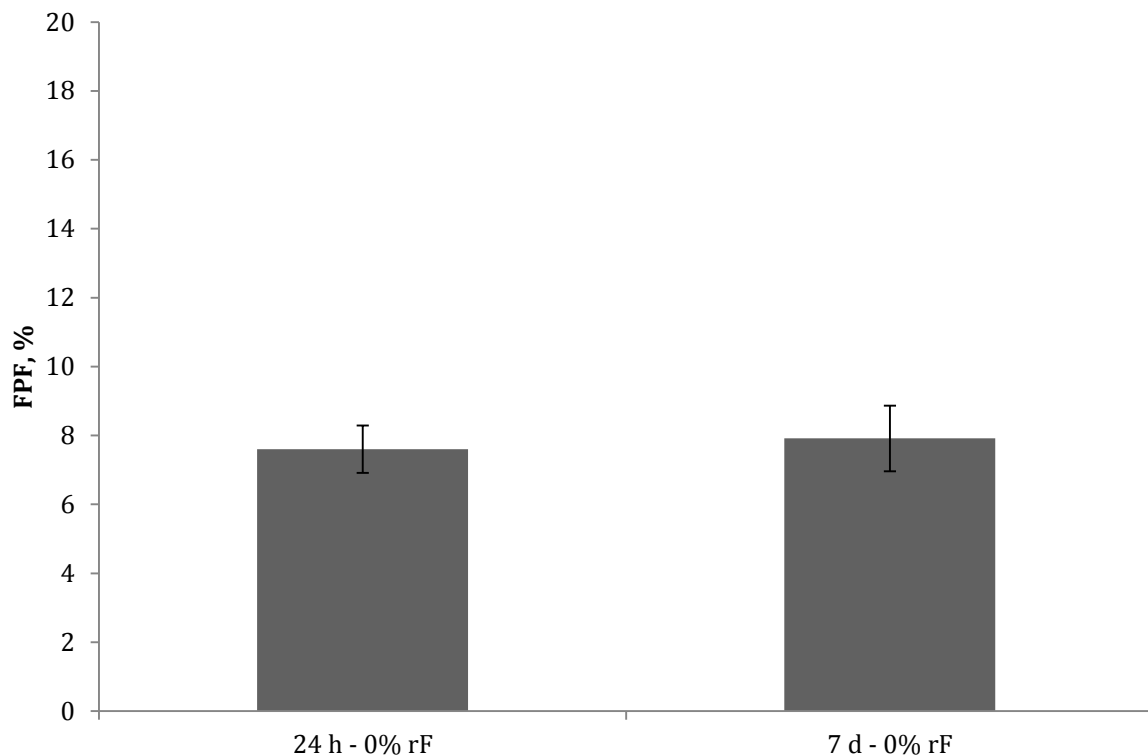


Abbildung 6.3-5: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischung nach Lagerung für 24 h und 7 d bei 0% rF

Es wird ersichtlich, dass sich bei trockener Lagerung der Pulvermischung das Deagglomerationsverhalten nicht in Abhängigkeit von der Zeit verändert. Mit einem Wert für die Feinpartikelfraktion von 8% gleicht sich das Deagglomerationsverhalten zu beiden Untersuchungszeitpunkten.

Um nun ebenso den Einfluss der Lagerungsfeuchte zu untersuchen, wurde ein direkter Vergleich zwischen der Lagerung für 24 Stunden bei 0% und 75% relativer Feuchte durchgeführt (Abbildung 6.3-6).

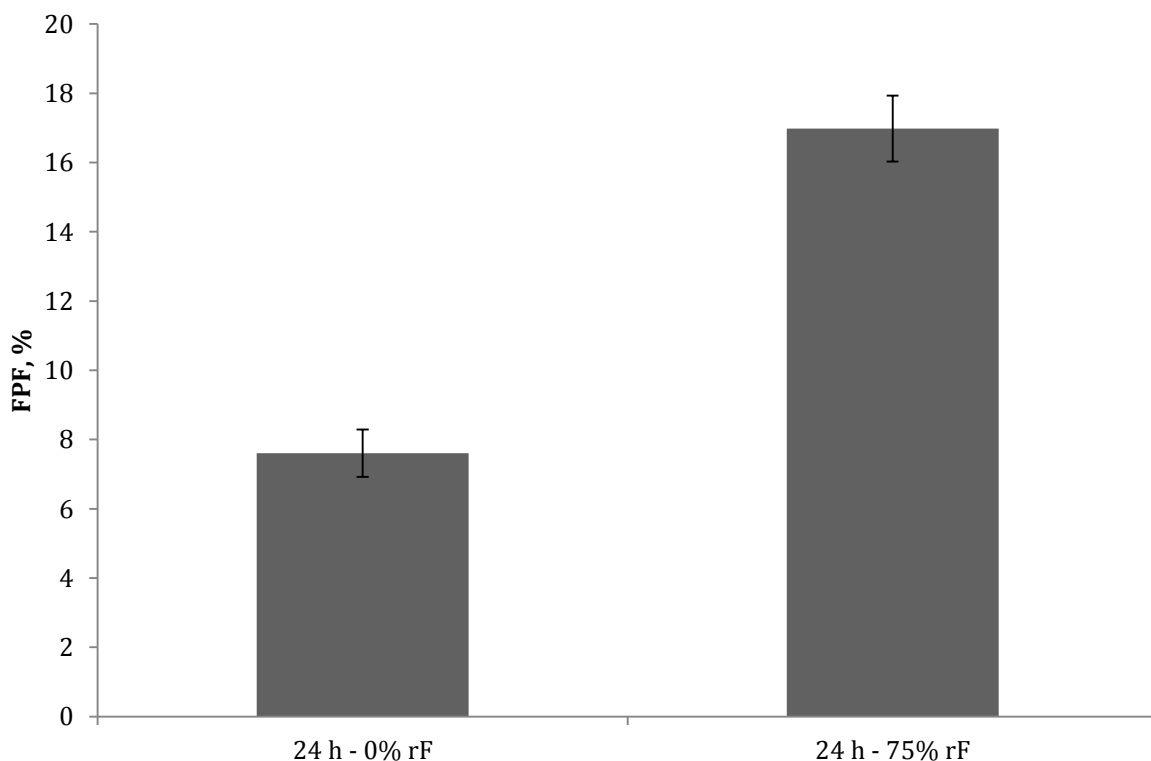


Abbildung 6.3-6: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischung mit 4% Budesonid nach Lagerung für 24 h bei 0% rF und 75% rF

Nach der 24-stündigen Lagerung der Pulvermischung ist ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$) im Deagglomerationsverhalten in Abhängigkeit von der zuvor gewählten Lagerungsfeuchte zu erkennen. Während die Feinpartikelfraktion nach trockener Lagerung bei nur 8% liegt, nimmt sie nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte einen deutlich höheren Wert von 17% an. Eine höhere relative Feuchte scheint also das Deagglomerationsverhalten entscheidend zu verbessern.

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass während des Mischprozesses eingebrachte elektrostatische Aufladungen des Pulvers bei zu trockener Lagerung nicht hinreichend abgebaut werden können, während diese bei höherer Feuchtigkeit besser aus dem Pulver abgeleitet werden können. Der Ladungsausgleich zwischen einzelnen Partikeln beziehungsweise den Partikeln und umgebenden Materialien erhöht sich mit steigender relativer Feuchte (Karner und Urbanetz, 2011). Dies lässt sich damit erklären, dass es mit steigender relativer Feuchte generell zu einer Erhöhung der Elektronenmobilität kommt, was zu einem verbesserten Abfließen elektrostatischer Ladungen führt.

Bei den in der Literatur vorhandenen Studien zur Beziehung zwischen relativer Feuchte und elektrostatischer Ladung werden zum Teil sehr unterschiedliche Fragestellungen untersucht, denen bei der Interpretation der Ergebnisse Beachtung geschenkt werden muss.

Elajnaf et al. (2006) konnten in einer Studie zum Einfluss der relativen Feuchte während des Mischprozesses zeigen, dass im Bereich von 0%-86% relativer Feuchte die elektrostatische Ladung mit zunehmender relativer Feuchte abnimmt. Messungen der elektrostatischen Ladung durch Eilbeck et al. (2000), die durch die Verwirbelung in einem Zyklon elektrostatische Ladungen über Reibung in die Laktose einbrachten, zeigen dazu passend ebenso bei höherer relativer Feuchte eine niedrigere elektrostatische Aufladung als unter trockeneren Bedingungen.

Diese beiden Studien legen den Fokus auf den Einfluss der relativen Feuchte während der Prozessierung von Pulvern und zeigen, dass bei der Herstellung und Handhabung von Pulvern und Pulvermischungen elektrostatische Ladungen durch bei den Prozessen auftretende Reibungen eingebracht werden. Das Ausmaß der resultierenden elektrostatischen Aufladung ist aber von der Umgebungsfeuchte während der Bearbeitung des Pulvers abhängig.

Einen anderen Ansatz hatten die Untersuchungen von Nomura et al. (2003). Hier wurde untersucht wie schnell sich zuvor eingebrachte elektrostatische Ladungen in Abhängigkeit von der anschließenden Lagerungsfeuchte wieder abbauen. Es konnte gezeigt werden, dass bei niedriger relativer Feuchte von 8,5% der Abfall

in der Ladung nur minimal war, während mit zunehmender Feuchte ein immer schnellerer Abfall der in das Pulver eingebrachten elektrostatischen Ladung auftrat. Diese Ergebnisse erklären eher die in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen, dass die Feinpartikelfraktion in der Impaktionsanalyse mit steigender Lagerungsfeuchte ansteigt. Da es sich um ein und dieselbe Pulvermischung handelte, die nur bei unterschiedlicher Feuchte gelagert wurde, können unterschiedliche Feuchten während des Mischvorgangs und dadurch eingebrachte elektrostatische Ladungen von unterschiedlicher Höhe keine Erklärung für die gemachten Beobachtungen sein. Vielmehr wird die schnellere Ableitung von beim Mischprozess eingebrachten elektrostatischen Ladungen durch die Lagerung bei höherer relativer Feuchte von Bedeutung sein.

Ergänzend dazu konnten Young et al. (2007) für interaktive Pulvermischungen mit Salbutamolsulfat und Laktose Unterschiede in der elektrostatischen Ladung des Pulvers bei der Impaktionsanalyse nach 24-stündiger Lagerung bei unterschiedlichen relativen Feuchten zeigen. Für den gesamten untersuchten Bereich von 0% bis 84% relativer Feuchte ergab sich, dass die elektrostatische Ladung mit zunehmender relativer Feuchte abnahm. In dieser Studie wurden zusätzlich die Feinpartikelfractionen der Pulvermischung mittels NGI bestimmt. Der niedrigste Wert in der Feinpartikelfraktion wurde für die Lagerung bei 0% relativer Feuchte erhalten, was sich mit den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen deckt. Mit steigender Lagerungsfeuchte des Pulvers konnte eine Zunahme in der Feinpartikelfraktion, mit einem Maximum bei 60% relativer Feuchte, beobachtet werden. Dem schloss sich eine leichte Abnahme der Feinpartikelfraktion mit weiter steigender Feuchte an. Die Feinpartikelfraktion blieb aber auch bei Feuchten über 60%, trotz der sinkenden Werte, deutlich über der Feinpartikelfraktion bei 0% Lagerungsfeuchte. Die wieder sinkenden Feinpartikelfractionen bei höherer relativer Feuchte, bei weiterer Abnahme der elektrostatischen Ladung, werden mit den sich negativ auf die Deagglomeration auswirkenden Kapillarkräften begründet. Diese zeigen erst bei hoher relativer Feuchte eine Auswirkung auf das Deagglomerationsverhalten von interaktiven Pulvermischungen und haben zudem für einen hydrophilen

Wirkstoff wie das Salbutamolsulfat einen größeren Einfluss, als für das hydrophobe Budesonid.

Die in Abbildung 6.3-1 und Abbildung 6.3-2 dargestellten Ergebnisse zeigen lediglich, dass die Lagerungsfeuchte direkt nach der Herstellung der Pulvermischungen von Bedeutung ist, was sich über die feuchteabhängige Ableitung elektrostatischer Ladungen, die durch den Mischprozess eingebracht wurden, erklären lässt.

Die Ableitung von elektrostatischen Ladungen aus Pulvern in Abhängigkeit von der Lagerungsfeuchte, sowie der Einfluss der Umgebungsfeuchte bei der Prozessierung von Pulvern und auch der Impaktionsanalyse sind vielfach beschrieben. Es gibt aber nur wenig Daten dazu in wie weit sich ein Wechsel der Lagerungsbedingungen während der Lagerung ohne das erneute Einbringen von elektrostatischen Ladungen auf das Deagglomerationsverhalten von Pulvern auswirkt.

Deshalb ergab sich die anschließende Fragestellung, ob eine schlechtere Deagglomeration nach der trockenen Lagerung nur auftritt, wenn die trockene Lagerung des Pulvers direkt an den Mischprozess anschließt und elektrostatische Kräfte entsprechend nicht hinreichend abgebaut werden können oder ob eine trockene Lagerung nach vorhergehender feuchter Lagerung sich ebenso negativ auf auswirkt. Dazu wurde die Pulvermischung nach 7-tägiger Lagerung bei 75% relativer Feuchte für 7 Tage bei 0% relativer Feuchte gelagert und die Entwicklung der Feinpartikelfraktion nach diesem Wechsel der Lagerungsbedingungen nach 24 Stunden und 7 Tagen untersucht (Abbildung 6.3-7).

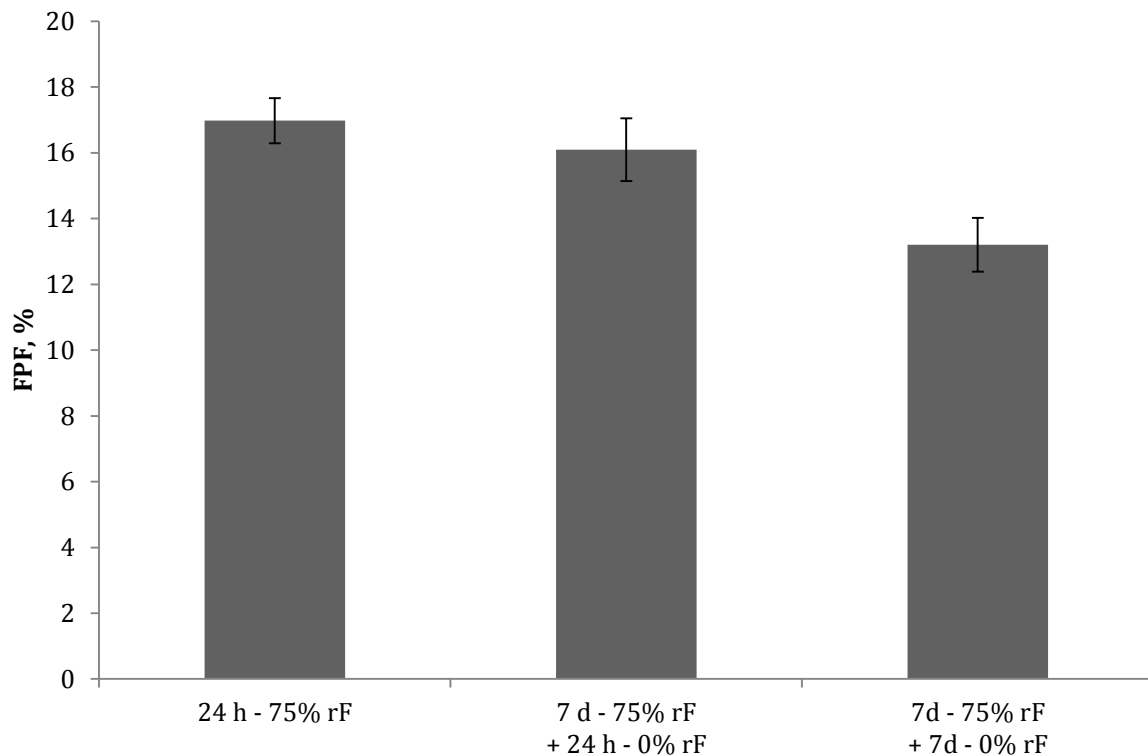


Abbildung 6.3-7: Entwicklung der Feinpartikelfraktion einer interaktiven Pulvermischung mit 4% Budesonid nach Lagerung bei 75% rF und anschließender Lagerung bei 0% rF

Im Vergleich zum Wert von $17,0 \pm 1,0\%$ für die Feinpartikelfraktion nach 24-stündiger Lagerung bei 75% relativer Feuchte, liegt die Feinpartikelfraktion nach Lagerung für 7 Tage bei 75% relativer Feuchte und anschließender 24-stündiger trockener Lagerung nur geringfügig, nicht signifikant niedriger. Es zeigt sich jedoch bei Betrachtung des Wertes für die Feinpartikelfraktion, wenn die Pulvermischung im Anschluss an die feuchte Lagerung für 7 Tage trocken über Phosphorpentoxid gelagert wurde, eine signifikante ($p=0,008$) Abnahme der Feinpartikelfraktion auf $13,2 \pm 0,4\%$. Dies zeigt, dass nicht nur die trockene Lagerung direkt im Anschluss an den Mischprozess, sondern auch im Anschluss an eine vorausgehende feuchtere Lagerung einen negativen Effekt auf das Deagglomerationsverhalten der Pulvermischung zu haben scheint. Diese Beobachtung kann nicht mit durch den Mischprozess eingebrachten elektrostatischen Ladungen im Pulver begründet werden, da diese sich wie oben beschrieben bereits durch die Lagerung bei 75% relativer Feuchte abgebaut

haben sollten. Dennoch scheint die anschließende trockene Lagerung einen negativen Effekt auf das Deagglomerationsverhalten des Pulvers zu haben.

Eine Begründung hierfür wäre, dass sich das Pulver während der Deagglomeration im Luftstrom durch Reibung, zwischen der strömenden Luft und einzelnen Partikeln, zwischen den Pulverpartikeln untereinander oder zwischen Pulver und Wandungen, elektrostatisch auflädt. Es kann angenommen werden, dass dieser Effekt bei trockenen Pulvern ausgeprägter ist, als nach der Lagerung bei 75% relativer Feuchte, wodurch ein gewisser Wasseranteil im Pulver vorhanden ist, durch den die Partikel besser gleiten beziehungsweise nicht so stark zur elektrostatischen Aufladung neigen.

Die vorhandenen Studien zur Beziehung zwischen der relativen Feuchte bei der Impaktionsanalysen von Pulvern durchgeführt werden und der währenddessen eingebrachten beziehungsweise vorhandenen elektrostatischen Ladung ergeben teilweise widersprüchliche Ergebnisse.

Während Chow et al. (2008) nach Messung der elektrostatische Ladung von bei unterschiedlichen Feuchten gelagerter Laktose zeigen konnten, dass es bis zu einer relativen Feuchte von 50% keinen signifikanten Unterschied in der elektrostatischen Ladung gibt, kommt es dort bei relativen Feuchten größer 50% zu einer deutlichen Abnahme in der elektrostatischen Ladung. Dies zeigt, dass auch der Unterschied zwischen der rein trockenen Lagerung und der Lagerung bei 75% relativer Feuchte ohne das vorherige Einbringen von Ladungen durch den Mischprozess eine Änderung in der elektrostatischen Ladung des Pulvers zur Folge haben kann. Durch den höheren Feuchtegehalt im Pulver können Ladungen schneller abgebaut werden. Im Gegensatz dazu konnte in der gleichen Studie für den Einfluss der relativen Feuchte während der Impaktionsanalyse ein umgekehrter Effekt beobachtet werden. Ab einer relativen Feuchte von 35% kam es mit zunehmender Feuchte während der Impaktionsanalyse auch zu einer Zunahme in der elektrostatischen Ladung der Laktose. Dies wird darüber begründet, dass sich durch die größere Feuchtigkeitsschicht auf den Partikeln mit steigender relativer Feuchte die Kontaktfläche zwischen den Partikeln vergrößert. Durch die erhöhte Kontaktfläche, die bei der Lagerung von Pulvern

das Abfließen von Ladungen erleichtert, wird andersrum während der Impaktionsanalyse die Reibung zwischen den Partikeln erhöht, wenn sie in den Luftstrom gegeben werden. Dies resultiert letztendlich in einer erhöhten elektrostatischen Aufladung. Bei niedrigerer relativer Feuchte als 35% scheint dies noch keinen Einfluss zu haben, da in dieser Studie die Werte bei 20% relativer Feuchte denen bei 35% relativer Feuchte gleichen. Die elektrostatische Ladung bei einer relativen Feuchte kleiner 20% wurde dort nicht untersucht. Zu beachten ist allerdings, dass die dort untersuchten Pulver zuvor nicht unterschiedlich konditioniert wurden, sondern die Feuchte nur während der Durchführung der Impaktionsanalyse variiert wurde.

Kwok und Chan (2008) konnten bei Untersuchung der Abhängigkeit der elektrostatischen Ladung von der relativen Feuchte während der Impaktionsanalyse zeigen, dass diese auch von den physiko-chemischen Eigenschaften des Wirkstoffes abhängig ist. Für Terbutalinsulfat nimmt die elektrostatische Ladung im Bereich von 15% bis 90% relativer Feuchte immer weiter ab, während sie für Budesonid bei 40% relativer Feuchte ein Minimum annimmt und mit sinkenden sowie steigenden Feuchten zunimmt.

Da die Impaktionsanalysen im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei 20% relativer Feuchte durchgeführt wurden, damit amorphe Anteile nicht rekristallisieren, ist kein Zusammenhang zwischen den Feinpartikelfractionen und der relativen Feuchte während der Impaktionsanalyse gegeben. Die Beobachtung, dass die Feinpartikelfraction einer interaktiven Pulvermischung sinkt, wenn sich der feuchten Lagerung eine trockene Lagerung anschließt, kann also nur darüber erklärt werden, dass sich zwar in den gelagerten Pulvern keine Unterschiede in der elektrostatischen Ladung zeigen sollten, die Feuchte während der Impaktionsanalyse aber nicht ausreichend war, um das trocken gelagerte Pulver hinreichend zu befeuchten und elektrostatische Aufladungen zu vermeiden. Bei dem feucht gelagerten Pulver wirkt sich die trockene Umgebungsluft hingegen nicht so stark auf das Deagglomerationsverhalten aus, da durch die feuchte Lagerung im Pulver selber noch genügend Feuchtigkeit vorhanden ist.

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die trockene Lagerung interaktiver Pulvermischungen über Phosphorpentoxid zu einer sehr geringen Feinpartikelfraktion führt, die sich anscheinend über elektrostatische Kräfte im Pulver erklären lässt und nicht im Zusammenhang mit dem amorphen Anteil in den Pulvermischungen steht, wurde im Folgenden auf die Bestimmung der Feinpartikelfraktion nach der trockenen Lagerung über Phosphorpentoxid verzichtet. Die Feinpartikelfraktion nach 24 Stunden wurde in den sich anschließenden Untersuchungen nun ebenso wie nach den weiteren Zeitpunkten nach Lagerung bei 45% und 75% relativer Feuchte bestimmt.

6.4 Interaktive Pulvermischungen mit 4% Salbutamolsulfat

6.4.1 Aerodynamische Charakterisierung

Wie schon in Kapitel 6.3 diskutiert können sich interaktive Pulvermischungen in Anhängigkeit von der Hydrophilie des Wirkstoffes ganz unterschiedlich verhalten. Deshalb wurde im Folgenden der Einfluss des Zusatzes amorpher Anteile zur Trägerlaktose für interaktive Pulvermischungen unter Verwendung von 4% des hydrophilen Wirkstoffs Salbutamolsulfat untersucht. Hierzu wurden zwei verschiedene interaktive Pulvermischungen hergestellt, die sich im verwendeten Träger unterschieden. Eine Pulvermischung wurde unter Verwendung des rein kristallinen Inhalac 230 hergestellt, während für die zweite Pulvermischung dem Inhalac 230 5% der gemahlenen, amorphen Laktose zugesetzt wurden. Die beiden interaktiven Pulvermischungen wurden wiederum für 12 Wochen bei 45% und 75% relativer Feuchte eingelagert und das Deagglomerationsverhalten über den genannten Zeitraum hinweg untersucht (Abbildung 6.4-1).

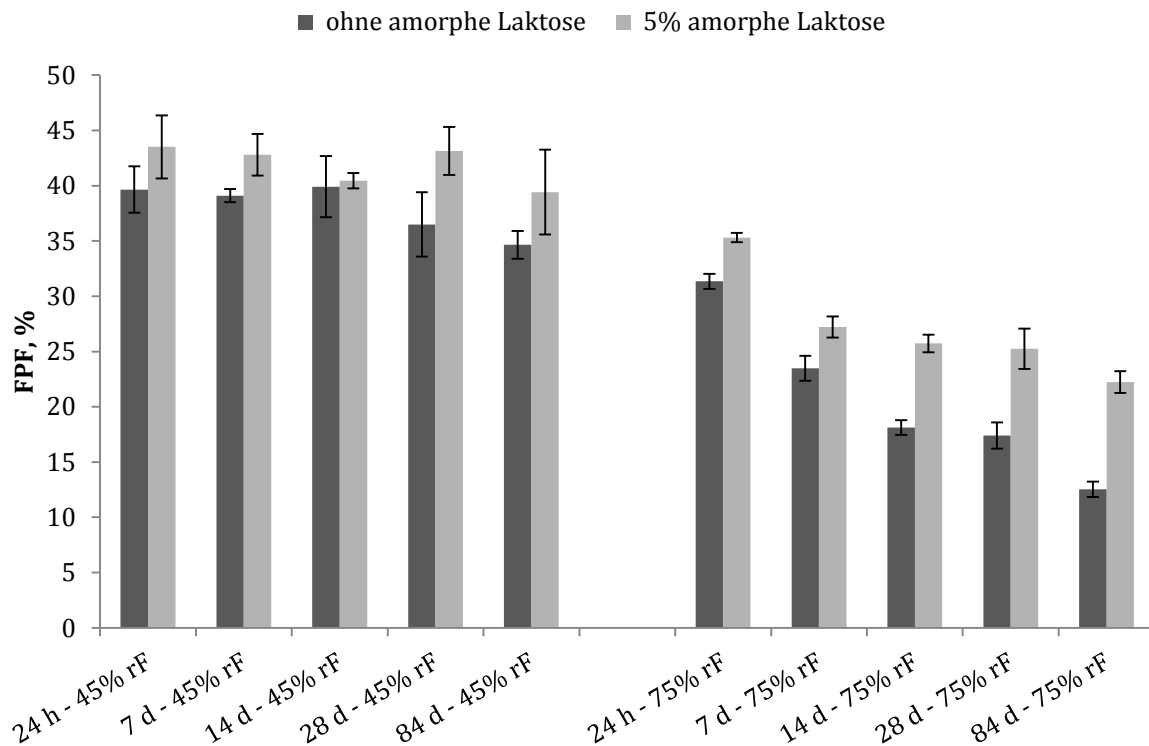


Abbildung 6.4-1: Feinpartikelfractionen interaktiver Pulvermischung mit 4% SBS bei Lagerung für 12 Wochen bei 45% und 75% rF

Bei Betrachtung der Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 4% Salbutamolsulfat fällt auf, dass diese nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte trotz identischer Wirkstoffkonzentration im Vergleich zu den Werten für die Pulvermischungen mit 4% Budesonid wesentlich höher liegen. Durch den Zusatz der gemahlenden, amorphen Laktose ergibt sich für die Lagerung bei 45% relativer Feuchte kein signifikanter Unterschied in der Feinpartikelfraktion im Vergleich zur Verwendung des rein kristallinen Inhalac 230 ($p < 0,05$). Unabhängig davon, ob amorphe Laktose zugesetzt wurde, zeigt sich für beide Pulvermischungen bei 45% relativer Feuchte eine stabile Feinpartikelfraktion, die sich über den Lagerungszeitraum von 12 Wochen nicht signifikant ($p > 0,05$) verändert.

Anders als bei den budesonidhaltigen interaktiven Pulvermischungen zeigt sich jedoch nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte ein deutlich schlechteres ($p \leq 0,001$) Deagglomerationsverhalten als nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte. Zudem ist über die 12 Wochen der Lagerung ein zeitlicher Trend in der Entwicklung der Feinpartikelfraktion zu erkennen. Mit zunehmender Lagerungs-

dauer sinkt die Feinpartikelfraktion der interaktiven Pulvermischungen immer weiter ab.

6.4.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Die im Folgenden abgebildeten rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen die beiden interaktiven Pulvermischungen mit 4% Salbutamolsulfat und den beiden unterschiedlichen Trägern. Es werden die Aufnahmen nach trockener Lagerung über Phosphorpentoxid mit denen nach 24-stündiger Lagerung bei 75% relativer Feuchte verglichen, um eventuell erkennbare Unterschiede aufzuzeigen, die durch den Feuchtigkeitseinfluss auf die Pulver zustände gekommen sind.

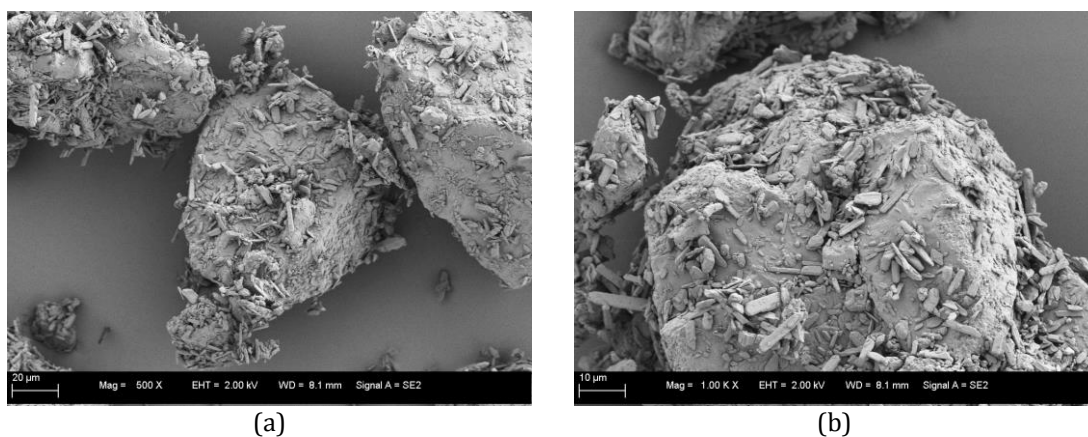


Abbildung 6.4-2: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% SBS und Inhalac 230 nach Lagerung bei 0% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

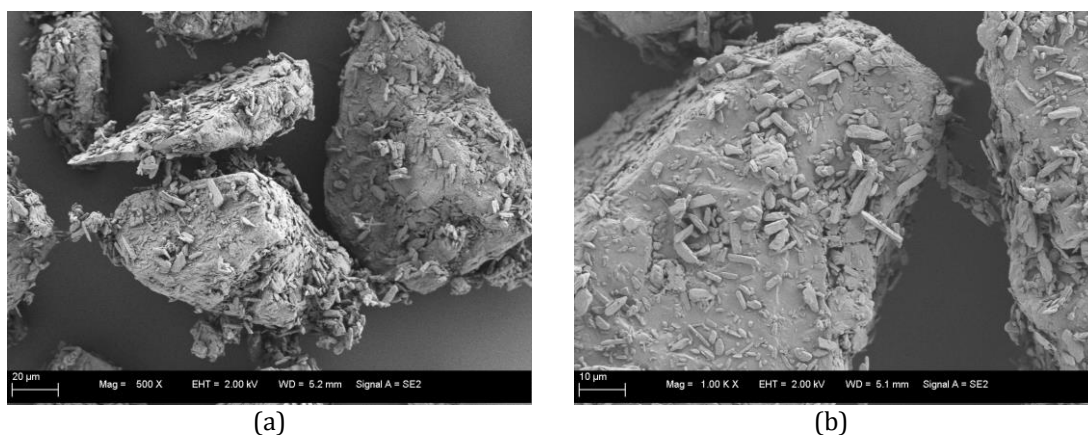
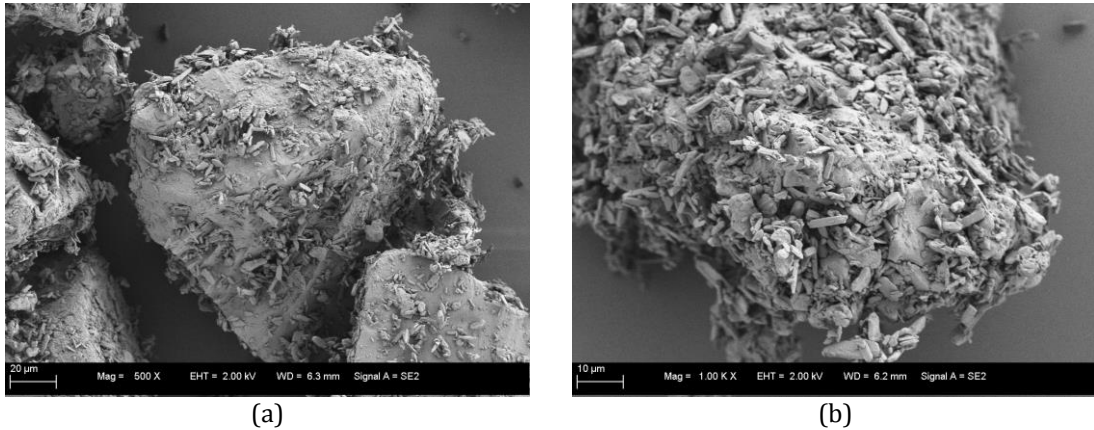
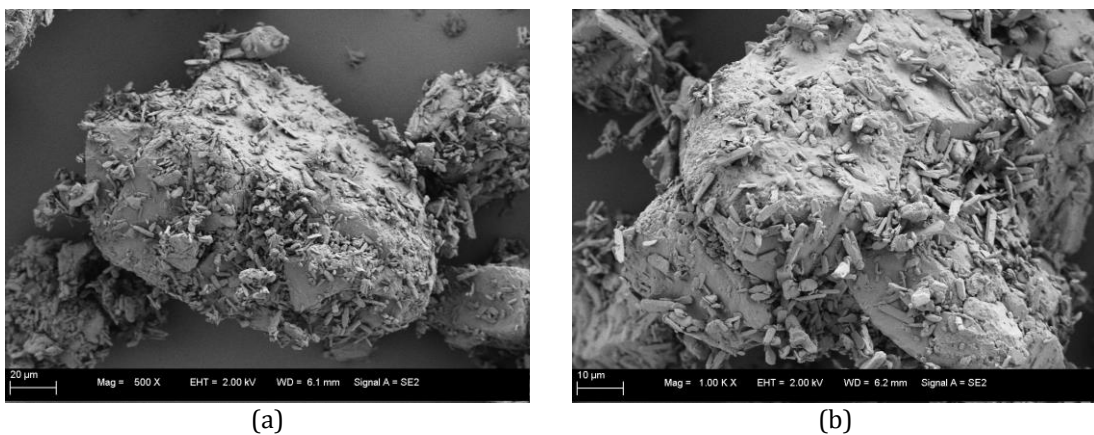


Abbildung 6.4-3: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% SBS und Inhalac 230 nach Lagerung für 24 h bei 75% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)



**Abbildung 6.4-4: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% SBS und 5% gemahlener, amorpher Laktose nach Lagerung bei 0% rF
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**



**Abbildung 6.4-5: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 4% SBS und 5% gemahlener, amorpher Laktose nach Lagerung für 24 h bei 75% rF
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**

Die Bilder zeigen, wie auch die Aufnahmen der budesonidhaltigen Pulvermischungen, eine hohe Absättigung der Laktoseoberfläche mit Wirkstoff. Dabei ist die nadelförmige Struktur des Salbutamolsulfats deutlich zu erkennen. Der Zusatz der gemahlener Laktose zum Träger wird auf den Bildern nicht deutlich (Abbildungen 6.4-4 und 6.4-5). Ebenso zeigt sich für beide Pulvermischungen keine offensichtlich höhere Agglomeration von Wirkstoffpartikeln nach der Lagerung bei 75% relativer Feuchte.

6.4.3 Diskussion der Ergebnisse

Beim Vergleich der Ergebnisse der salbutamolsulfathaltigen Pulvermischungen mit denen, die Budesonid enthalten, fällt nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte auf, dass die Feinpartikelfractionen für die Mischungen mit Salbutamolsulfat deutlich höher liegen. Eine Begründung hierfür ist, dass sich, wie in Kapitel 6.3.3 beschrieben, Kapillarkräfte für hydrophobe Stoffe früher bemerkbar machen, als für hydrophile Stoffe. Neben dem Unterschied in ihrer Hydrophilie unterscheiden sich das Budesonid und das Salbutamolsulfat aber auch strukturell deutlich voneinander. Das Salbutamolsulfat zeigt im Gegensatz zum Budesonid eine deutlich nadelförmige Struktur. Die nadelförmigen Partikel können durch den Luftstrom leichter vom Träger abgelöst werden und führen somit zu einer höheren Feinpartikelfraction (Larhrib et al., 2003).

Die beobachteten abnehmenden Feinpartikelfractionen für die salbutamolsulfathaltigen interaktiven Pulvermischungen bei höherer relativer Feuchte werden auf den schon in Kapitel 6.3.3 diskutierten Einfluss von Kapillarkräften zurückzuführen sein, der mit steigender relativer Feuchte für hydrophile Stoffe an Bedeutung gewinnt. Aus diesem Grund ist für das hydrophile Salbutamolsulfat ein ausgeprägter Einfluss dieser Kräfte zu beobachten (Young et al., 2003, Price et al., 2002, Iida et al., 2004).

Für die salbutamolsulfathaltigen Pulvermischungen fällt zudem auf, dass neben der Abhängigkeit der Feinpartikelfraction von der Lagerungsfeuchte bei 75% relativer Feuchte zusätzlich ein abnehmender Trend der Feinpartikelfraction über die Lagerungszeit von 12 Wochen zu verzeichnen ist. Dieser Effekt konnte auch in Untersuchungen von Zeng et al. (2007) beobachtet werden. Je nach Eigenschaft des Trägers ergab sich über 6 Tage Lagerung eine unterschiedlich stark ausgeprägte Abnahme in der Feinpartikelfraction. Dieser Effekt lässt sich zum einen über die auftretenden Kapillarkräfte erklären, auf der anderen Seite aber auch darüber, dass es mit der Zeit aufgrund des hydrophilen Charakters bei hoher Feuchte zu einem leichten Anlösen von Wirkstoff und Laktose kommen kann. Dadurch besteht die Möglichkeit der Ausbildung von Feststoffbrücken zwischen den einzelnen Partikeln.

Dass sich in dieser Arbeit der stärkste Abfall in der Feinpartikelfraktion zwischen der Lagerung für 24 Stunden und 7 Tage bei 75% relativer Feuchte ergibt, mag darin begründet liegen, dass sich nach 24 Stunden noch kein komplettes Gleichgewicht zwischen der Feuchtigkeit im Pulver und der Umgebungsfeuchte eingestellt hat. Das Pulver ist zwar rekristallisiert, nimmt aber weiterhin Feuchtigkeit auf, so dass sich der Einfluss der Kapillarkräfte erhöht. Wenn ein Anlöseprozess der Oberflächen von Wirkstoff und Träger von Bedeutung ist, wird auch dessen Einfluss mit zunehmender Lagerungsdauer ansteigen.

Der beobachtete Effekt, dass der Zusatz von 5% der gemahlenen, amorphen Laktose bei 45% relativer Feuchte zu keinem signifikanten Unterschied in der Feinpartikelfraktion führt, jedoch bei 75% relativer Feuchte bereits nach 24-stündiger Lagerung zu einer signifikant ($p=0,001$) erhöhten Feinpartikelfraktion führt, kann unter Umständen über Veränderungen im Feinanteil des Laktoseträgers durch den Zusatz der amorphen Laktose erklärt werden. Die Unterschiede im Träger machen sich bei 45% relativer Feuchte nicht bemerkbar, da die Feinpartikelfraktion mit knapp 50% schon sehr hoch ist, so dass eine Veränderung der Eigenschaften des Trägers zu keiner weiteren Erhöhung der Feinpartikelfraktion mehr führt. Durch die geringe Feinpartikelfraktion bei 75% relativer Feuchte machen sich auf der anderen Seite verbesserte Eigenschaften des Trägers eventuell stärker bemerkbar. Der Einfluss der gemahlenen Laktose auf den Träger wird in Kapitel 6.5.3.3 für die Pulvermischungen mit 0,4% Wirkstoffanteil genauer diskutiert.

6.5 Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Wirkstoffanteil

6.5.1 Einleitung

Nachdem für die interaktiven Pulvermischungen mit 4% Wirkstoff sowohl für das hydrophobe Budesonid als auch für das hydrophile Salbutamolsulfat keine entscheidenden Unterschiede im Deagglomerationsverhalten in Abhängigkeit vom zugesetzten amorphen Anteil beobachtet werden konnten, wurde im Folgenden die Arzneistoffkonzentration auf 0,4% herabgesetzt. Solche Unterschiede der gewählten Wirkstoffkonzentrationen sind auch für Marktformulierungen nicht ungewöhnlich. Abhängig vom gewählten Wirkstoff sind beide Wirkstoffkonzentrationen repräsentativ für auf dem Markt befindliche Pulverformulierungen zur Inhalation, bei denen der Wirkstoffanteil in der Regel zwischen 0,1% und 4% variiert (Grasmeijer et al., 2013). Die Erwartung war, dass sich bei einem niedrigeren Wirkstoffanteil der Einfluss des zugesetzten gemahlenen, amorphen Anteils auf die Lagerstabilität der interaktiven Pulvermischungen deutlicher darstellen würde. Hierfür wurden zum Vergleich interaktive Pulvermischungen mit zwei unterschiedlichen Laktoseträgern verwendet. Wie bei den Stabilitätsuntersuchungen der interaktiven Pulvermischungen mit 4% Salbutamolsulfat, wurde eine der beiden Pulvermischungen mit rein kristallinem Inhalac 230 hergestellt, während für die andere Pulvermischung das kristalline Inhalac 230 mit 5% gemahlener, amorpher Laktose versetzt wurde.

6.5.2 Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Budesonid

6.5.2.1 Aerodynamische Charakterisierung

Abbildung 6.5-1 zeigt die Entwicklung der Feinpartikelfractionen der beiden interaktiven Pulvermischungen mit 0,4% Budesonid über 12 Wochen bei 45% und 75% relativer Feuchte.

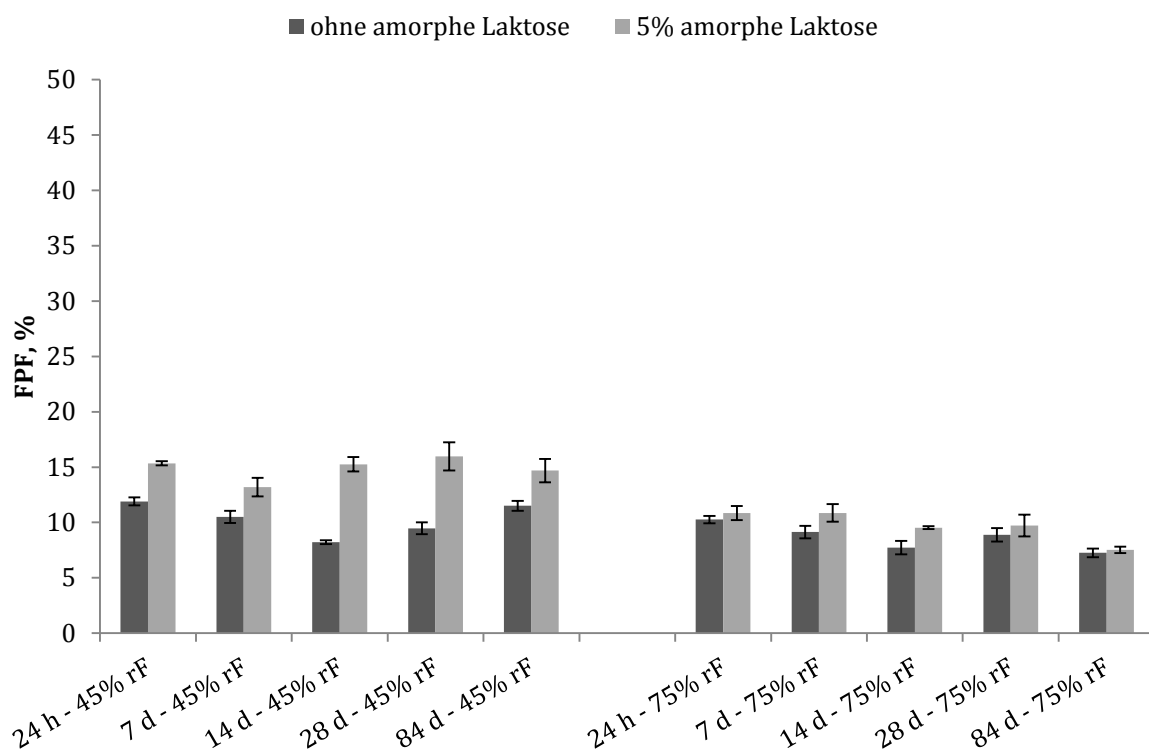


Abbildung 6.5-1: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 0,4% Budesonid bei Lagerung für 12 Wochen bei 45% und 75% rF

Es ist zu erkennen, dass die Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 0,4% Budesonid im Vergleich zu den Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit dem höheren Anteil von 4% Budesonid (Kapitel 6.3.1) insgesamt auf einem wesentlich niedrigeren Niveau liegen. Während sie nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte für die interaktive Pulvermischung mit Zusatz von 5% der amorphen Laktose leicht über den Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischung mit dem rein kristallinen Träger liegen ($p \leq 0,001$), ergibt sich nach Lagerung bei 75%

relativer Feuchte kein signifikanter Unterschied in den erhaltenen Feinpartikelfractionen. Die Lagerung bei 45% relativer Feuchte zeigt für beide Pulver Schwankungen in der Feinpartikelfraktion im zeitlichen Verlauf über 12 Wochen ohne deutlichen Trend. Dagegen kommt es bei 75% relativer Feuchte für beide Pulvermischungen über die Zeit zu einer leichten Abnahme in der Feinpartikelfraktion.

6.5.2.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

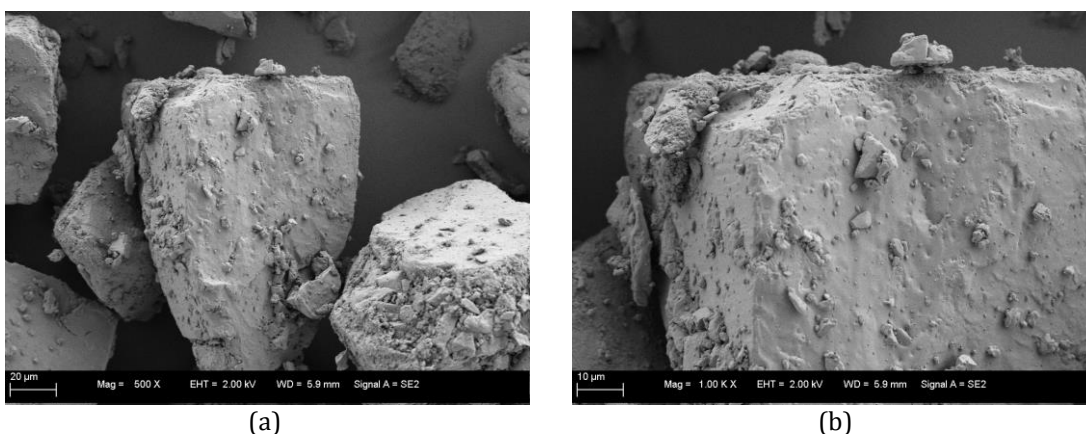


Abbildung 6.5-2: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit Inhalac 230 und 0,4% Budesonid nach Lagerung bei 0% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

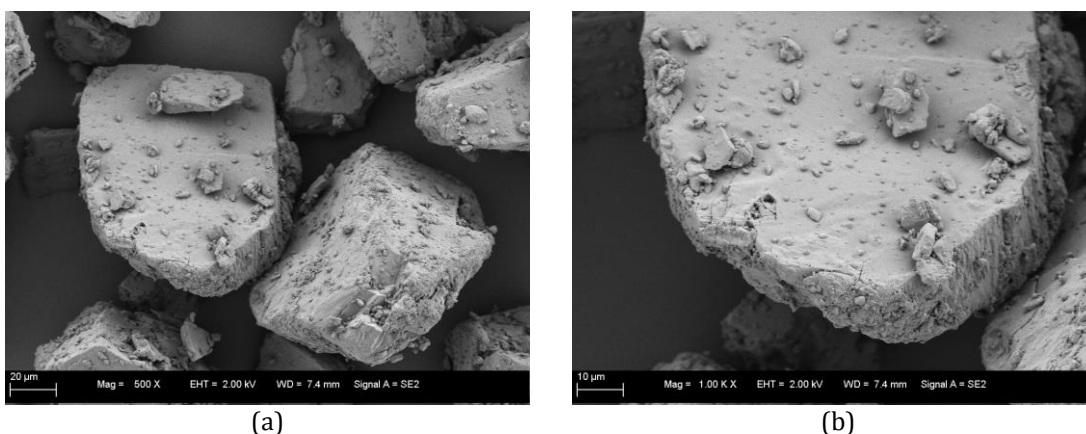
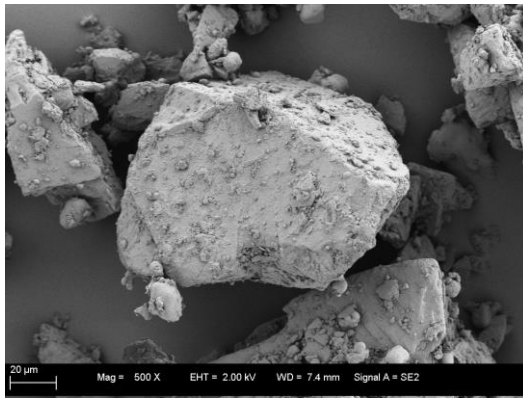
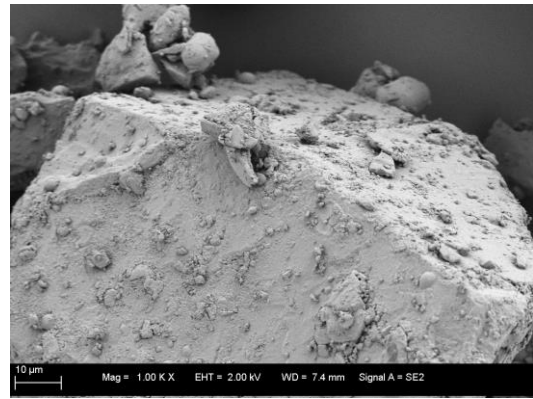


Abbildung 6.5-3: REAufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit Inhalac 230 und 0,4% Budesonid nach Lagerung für 24 h bei 75% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

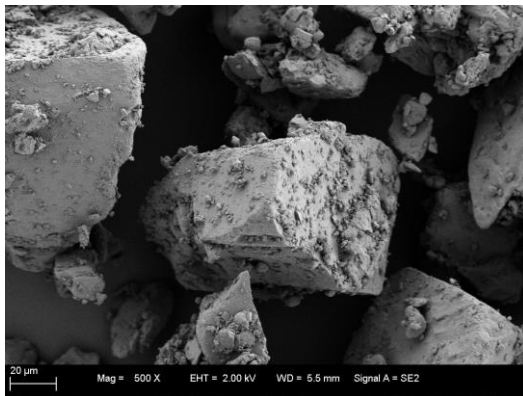


(a)

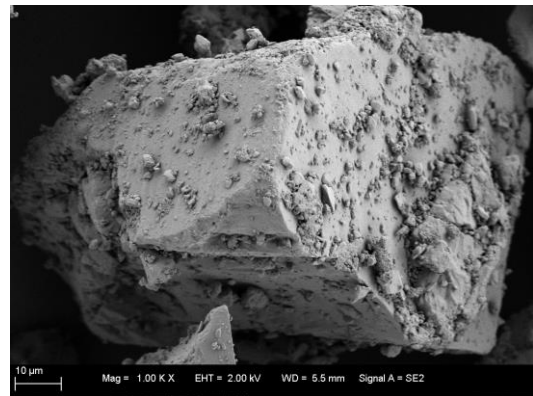


(b)

**Abbildung 6.5-4: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% gemahlener, amorpher Laktose und 0,4% Budesonid nach Lagerung bei 0% rF
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**



(a)



(b)

**Abbildung 6.5-5: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% gemahlener, amorpher Laktose und 0,4% Budesonid nach Lagerung für 24 h bei 75% rF
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen den durch die Verwendung von nur 0,4% Budesonid sehr geringen Feinanteil auf der Oberfläche der Laktose. Optisch sind für beide Träger keine Unterschiede zwischen der Lagerung bei 0% und 75% relativer Feuchte zu erkennen. Nach Zusatz von 5% gemahlener, amorpher Laktose zeigen sich zusätzlich kleinere, rundere Partikel, die vermutlich der gemahlene Laktose zugeordnet werden können (Abbildungen 6.5-4 und 6.5-5).

6.5.3 Interaktive Pulvermischungen mit 0,4% Salbutamolsulfat

6.5.3.1 Aerodynamische Charakterisierung

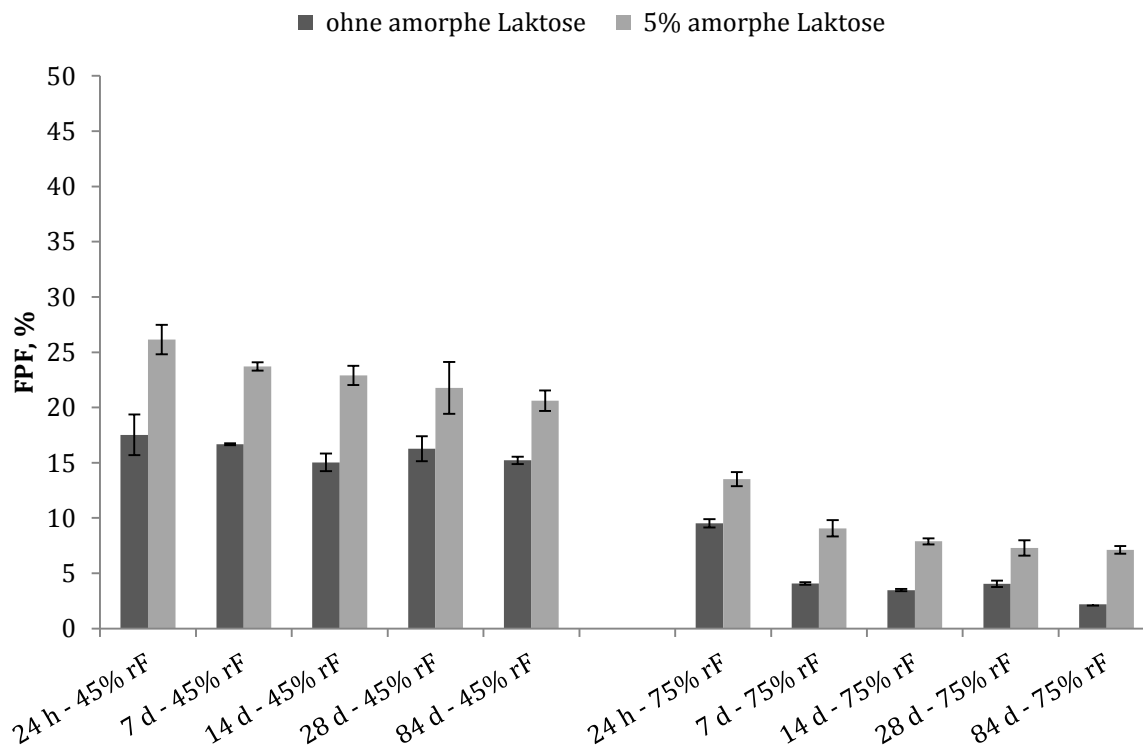
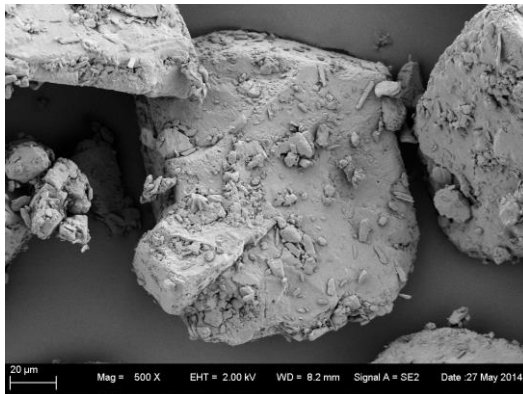


Abbildung 6.5-6: Feinpartikelfractionen der interaktiver Pulvermischungen mit 0,4% SBS bei Lagerung für 12 Wochen bei 45% und 75% rF

Abbildung 6.5-6 zeigt die Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 0,4% Salbutamolsulfat. Auch hier kommt es insgesamt zu einer deutlichen Verringerung der Feinpartikelfraktion gegenüber der interaktiven Pulvermischung mit höherer Wirkstoffkonzentration. Wie für die höhere Konzentration an Salbutamolsulfat kann auch hier ein deutlicher Unterschied in der Feinpartikelfraktion in Abhängigkeit von der Lagerungsfeuchte beobachtet werden. Bei 75% relativer Feuchte ergeben sich nur sehr geringe Feinpartikelfractionen. Nach Zusatz von 5% gemahlener, amorpher Laktose zum Träger ergibt sich hier bei beiden Lagerungsfeuchten eine höhere Feinpartikelfraktion im Vergleich zur Verwendung des rein kristallinen Trägers. Der zeitliche Trend in der Abnahme der Feinpartikelfraktion ist auch bei 45% relativer Feuchte zu erkennen, allerdings geringer ausgeprägt als bei 75% relativer Feuchte.

6.5.3.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

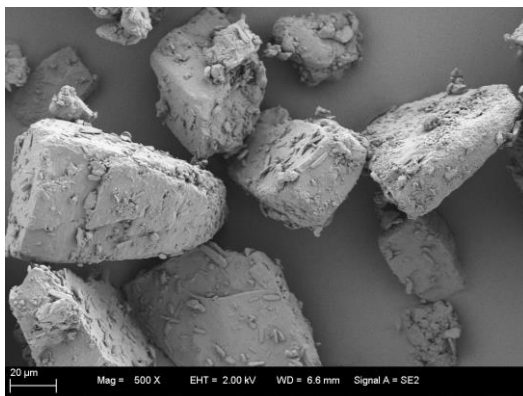


(a)

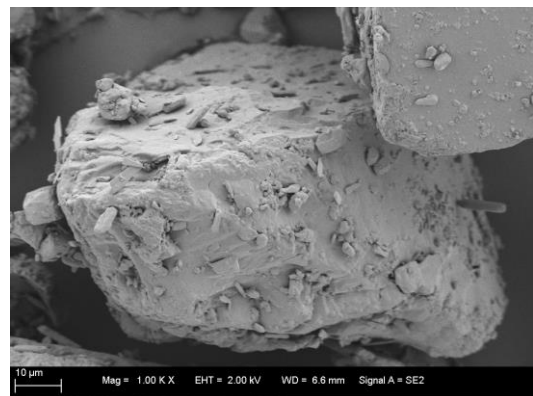


(b)

Abbildung 6.5-7: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit Inhalac 230 und 0,4% SBS nach Lagerung bei 0% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

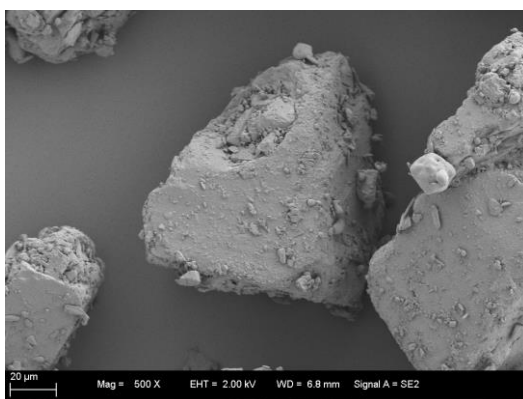


(a)

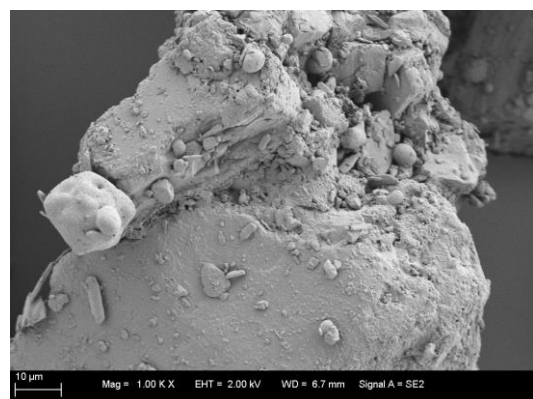


(b)

Abbildung 6.5-8: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit Inhalac 230 und 0,4% SBS nach 24 h Lagerung bei 75% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)



(a)



(b)

Abbildung 6.5-9: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% gemahlener, amorpher Laktose und 0,4% SBS nach Lagerung bei 0% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

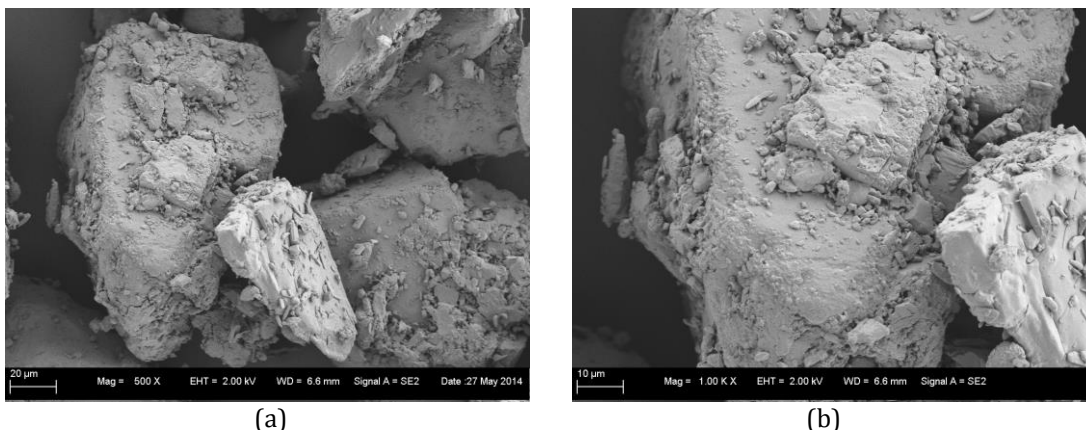


Abbildung 6.5-10: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% gemahlener, amorpher Laktose und 0,4% SBS nach Lagerung für 24 h bei 75% rF (a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)

Auch für die salbutamolsulfathaltigen Pulvermischungen lässt sich auf den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen eine sehr geringe Absättigung der Laktoseoberfläche mit Wirkstoff erkennen. Es wird zudem keine Veränderung des Pulvers bedingt durch die feuchte Lagerung ersichtlich.

Das Pulver mit 5% gemahlener, amorpher Laktose im Träger zeigt wiederum rundere Partikel und größere, glattere Bruchstücke der Laktose (Abbildungen 6.5-9 und 6.5-10). Deren äußeres Erscheinungsbild weist darauf hin, dass es sich hierbei um Fragmente der gemahlenden, amorphen Laktose handeln kann.

6.5.3.3 Diskussion der Ergebnisse

Der beobachtete, vom Wirkstoff unabhängige, Unterschied im prozentualen Anteil der inhalierbaren Fraktion in Abhängigkeit vom Wirkstoffanteil ist in der Literatur vielfach beschrieben. Zum Beispiel konnten Le et al. (2012) eine solche Abhängigkeit der Feinpartikelfraktion interaktiver Pulvermischungen vom Wirkstoffanteil zeigen. Young et al. (2005) zeigten bereits bei der Verwendung von Wirkstoffkonzentrationen von 1% und geringer, dass eine Abhängigkeit des Deagglomerationsverhaltens vom prozentualen Anteil des Wirkstoffes in einer Pulvermischung besteht. In einer weiteren Studie konnte zudem gezeigt werden, dass die Entwicklung des Wirkstoffrückstands auf dem Träger in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration eine Flussratenabhängigkeit zeigt. Während bei

höherer Flussrate von 60 l/min eine generelle Abnahme des prozentualen Wirkstoffrückstands auf dem Träger mit steigender Wirkstoffkonzentration beobachtet werden konnte, zeigte sich bei einer niedrigeren Flussrate von 30 l/min eine Abhängigkeit von der Partikelgröße der Trägerlaktose (Dickhoff et al., 2003). Dies lässt sich darüber erklären, dass bei höherer Flussrate insgesamt größere Kräfte zur Ablösung des Wirkstoffes vom Träger herrschen, so dass sich Unterschiede in den Bindungskräften des Wirkstoffes an den Träger in Abhängigkeit von den Eigenschaften des Trägers nur bei weniger starken Deagglomerationskräften bemerkbar machen.

Die unterschiedliche Deagglomerationseffizienz von Inhalationspulvern in Abhängigkeit vom Wirkstoffanteil der Formulierung lässt sich über verschiedene auftretende Mechanismen in interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation diskutieren. Je nach Wirkstoffkonzentration üben diese einen unterschiedlich stark ausgeprägten Einfluss auf die Feinpartikelfraktion der Pulver aus.

De Boer et al. (2005) beschreiben fünf entscheidende Parameter, die das Adhäsionsverhalten des Wirkstoffs auf dem Träger beeinflussen und somit von entsprechender Relevanz für das Zusammenspiel der Adhäsions- und Separationskräfte zwischen Wirkstoff und Träger während des Inhalationsprozesses sind. Zu den drei wichtigsten Mechanismen für diese Arbeit zählen die Kapazität von Oberflächenkavitäten auf der groben Trägerlaktose für den mikronisierten Wirkstoff, die Absättigung von Bereichen hoher energetischer Dichte, so genannter „active sites“, auf der Laktoseoberfläche und die Höhe und Effektivität der „press-on forces“ während des Mischvorganges. Als ein Resultat der „press-on forces“ findet hier auch die Agglomeratbildung zwischen mikronisierten Wirkstoffpartikeln als ein weiterer wichtiger Einflussfaktor Beachtung. Die beiden weiteren in dieser Studie beschriebenen, relevanten Parameter sind die Mischintensität und die Art und Größe der Kräfte zum Ablösen des Wirkstoffes während des Inhalationsvorganges. Dass das Deagglomerationsverhalten von Inhalationspulvern zusätzlich von weiteren Effekten wie zum Beispiel der verwendeten Flussrate, den unterschiedlichen Eigenschaften des Wirkstoffes und der Mischintensität und der Mischdauer

abhängig ist, ist auch bei Grasmeijer et al. (2013) und Cordts (2014) beschrieben. Diese Parameter werden in der vorliegenden Arbeit aber ohne Einfluss sein, da diese bewusst konstant gehalten wurden, um den Einfluss weiterer Faktoren zu minimieren.

Die erwähnten Unregelmäßigkeiten der Laktoseoberfläche, vor allem tiefere Kavitäten führen oftmals dazu, dass sich der mikronisierte Wirkstoff während des Mischvorganges bevorzugt in diesen Vertiefungen und Unebenheiten anlagert. Wirkstoffpartikel, die in solchen Bereichen an die Laktose adhäreren, sind aufgrund der größeren Kontaktfläche durch stärkere mechanische Kräfte mit der Laktose verbunden. Dies kann dazu führen, dass während des Inhalationsvorganges die durch den Luftstrom generierten Separationskräfte nicht ausreichend sind, um die Wirkstoffpartikel aus diesen Kavitäten auf der Laktose zu lösen. Da die absolute Anzahl der so gebundenen mikronisierten Wirkstoffpartikel bei unveränderten Eigenschaften des Trägers auch bei unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen gleich bleibt, gibt es bei höheren Wirkstoffkonzentrationen einen größeren Wirkstoffanteil, der außerhalb solcher Kavitäten vorliegt.

Eine weitere Erklärung für diese vielfach beobachtete geringere Feinpartikelfraktion beziehungsweise den höheren Wirkstoffrückstand auf dem Träger bei Verwendung niedrigerer Wirkstoffkonzentrationen beruht auf der angesprochenen „active site“-Theorie (Dickhoff et al., 2005). Der Begriff „active site“ besagt nicht, dass es aktive und inaktive Bereiche auf der Laktoseoberfläche gibt, sondern es wird bei dieser Theorie davon ausgegangen, dass es auf den einzelnen Partikeln der Trägerlaktose zum einen Bereiche höherer und auf der anderen Seite Bereiche mit niedrigerer energetischer Dichte gibt (Grasmeijer et al., 2014). Wird zu der Trägerlaktose Wirkstoff gegeben, lagern sich die mikronisierten Wirkstoffpartikel während des Mischprozesses bevorzugt an diesen Bereichen hoher energetischer Dichte an. Diese Bereiche können sich in den zuvor genannten Kavitäten in der Laktose befinden. Dies ist aber nicht ausschließlich der Fall, was bedeutet, dass sich auch auf der glatten Laktoseoberfläche Bereiche mit höherer und niedrigerer energetischer Dichte

abwechseln (de Boer et al., 2005). Bereiche höherer energetischer Dichte entstehen auch überall dort, wo es zu Unregelmäßigkeiten in der Oberflächenstruktur kommt, sei es durch Verunreinigungen oder amorphe Bereiche. Ist die Bindung der Wirkstoffpartikel an die Bereiche hoher energetischer Dichte der Laktose stärker als die zur Deagglomeration eingebrachte Energie, verbleiben die mikronisierten Wirkstoffpartikel auf der Oberfläche der Laktose. Die absolute Anzahl hochenergetischen Bindungsstellen ist für den jeweiligen Träger konstant. Somit steigt mit zunehmender Wirkstoffkonzentration in der Pulvermischung der prozentuale Anteil an nur leichter gebundenen beziehungsweise frei vorliegenden Wirkstoffpartikeln, die nicht mit diesen Bereichen hoher energetischer Dichte wechselwirken. Dies resultiert wiederum in dem beobachteten, von der Konzentration des Wirkstoffes abhängigen, Unterschied im prozentualen inhalierbaren Anteil von interaktiven Pulvermischungen.

Die erwähnten „press-on forces“ sind Kräfte, die während des Mischvorganges zur Herstellung der interaktiven Pulvermischungen aus grobem Träger und dem mikronisierten Wirkstoff entstehen. Die adhäsiven Kräfte zwischen Wirkstoff und Träger werden dadurch erhöht, dass die Wirkstoffpartikel während des Mischprozesses auf die Trägersoberfläche gepresst werden. Die Bedeutung der „press-on forces“ für Pulvermischungen wurde bereits von Podczeck (1996) beschrieben. In den Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Adhäsionskräfte eines Wirkstoffes auf einem Träger von der Kraft abhängen mit der dieser auf den Träger aufgebracht wurde. Wirkstoffpartikel, die sich in Kavitäten des Trägers abgelagert haben sind für diese Kräfte kaum mehr zugänglich, so dass die Auswirkung dieser Kräfte auf Wirkstoffpartikel auf der direkten Oberfläche der Laktose am größten ist. Durch die während des Mischvorganges einwirkenden Kräfte werden die Wirkstoffpartikel auf den Träger gepresst. Deshalb kann auch eine Zunahme dieser Kräfte mit steigender Mischdauer von Pulvermischungen beobachtet werden (Dickhoff et al., 2003). Mit steigendem Wirkstoffanteil in der interaktiven Pulvermischung wird der Anteil der vor den „press-on forces“ geschützten, in Kavitäten befindlichen Wirkstoff-

partikel geringer, so dass mit steigendem Wirkstoffanteil der Einfluss dieser Kräfte zunimmt.

Mit zunehmender Wirkstoffkonzentration in interaktiven Pulvermischungen kommt noch ein weiterer, die resultierende Feinpartikelfraktion erhöhender Effekt hinzu. Bei sehr hoher Wirkstoffkonzentration, wie es in dieser Arbeit bei der Verwendung von 4% Wirkstoff der Fall ist, ist die Oberfläche des Trägers komplett mit einer Schicht aus Wirkstoff belegt. Sobald die Oberfläche des Trägers mit Wirkstoff gesättigt ist, kann es zur Ausbildung von Agglomeraten zwischen den mikronisierten Wirkstoffpartikeln kommen. Als verantwortliche Kräfte für die Ausbildung solcher Wirkstoffagglomerate werden unter anderem wiederum die „press-on forces“, postuliert (de Boer et al., 2004). Solche Wirkstoffagglomerate auf der Trägersoberfläche sind aufgrund ihrer höheren Masse und des größeren Durchmessers besser zugänglich für die Kräfte, die den Wirkstoff während des Inhalationsvorganges vom Träger ablösen. Dies hat zur Folge, dass die Feinpartikelfraktion mit der Anzahl an Agglomeraten in einer interaktiven Pulvermischung ansteigt. Nach dem Ablösen der Agglomerate vom Träger können diese in einem zweiten Schritt weiter deagglomeriert werden. Ebenso können Wirkstoffagglomerate von kleinerer Größe als Ganzes zur resultierenden Feinpartikelfraktion einer interaktiven Pulvermischung nach der Impaktionsanalyse beitragen.

Es wird deutlich, dass die Abhängigkeit des prozentualen inhalierbaren Anteils von interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation von der Wirkstoffkonzentration sich nicht über einen einzelnen Effekt beschreiben lässt, sondern vielmehr ein Zusammenspiel all dieser beschriebenen Mechanismen ist.

Neben der generell niedrigeren Feinpartikelfraktion für die interaktiven Pulvermischungen mit 0,4% Wirkstoffanteil fällt auf, dass die Feinpartikelfraktionen für die interaktive Pulvermischung mit den zugesetzten 5% gemahlener, amorpher Laktose im Träger teilweise über denen der interaktiven Pulvermischung mit dem rein kristallinen Inhalac 230 liegen. Dieser Effekt ist für die Verwendung von Budesonid nur nach Lagerung bei 45%

relativer Feuchte zu erkennen und vergleichsweise gering ausgeprägt, während für die salbutamolsulfathaltigen Pulvermischungen dieser Effekt bei beiden Lagerungsfeuchten deutlicher zu erkennen ist. Dies zeigt, dass die interaktiven Pulvermischungen mit geringerer Wirkstoffkonzentration sensibler für Veränderungen des Trägers sind.

Dies ist eine Beobachtung, die auch einer Studie von Steckel et al. (2004) gemacht wurde. Die Untersuchungen zeigten neben dem beschriebenen Effekt der erhöhten Feinpartikelfraktion mit steigendem Wirkstoffgehalt im Inhalationspulver, dass bei der Verwendung einer niedrigeren Wirkstoffkonzentration für die Testung unterschiedlicher Eigenschaften von Trägermaterialien signifikante Unterschiede zu beobachten waren. Bei höherer Wirkstoffkonzentration ergaben sich hingegen nur geringfügige, nicht signifikante Unterschiede im Deagglomerationsverhalten.

Durch den Zusatz der gemahlenen Laktose verändert sich neben dem amorphen Anteil auch die Partikelgrößenverteilung der Trägerlaktose und es werden Partikel von anderer Oberflächenbeschaffenheit eingebracht. Bei dem hier zugesetzten gemahlenen, amorphen Material handelt es sich zwar nicht um mikronisiertes Material, aber es ist dennoch kleiner als die Ausgangslaktose und erhöht den Feinanteil in der Trägerlaktose. Die Anfertigung von ternären Mischungen ist ein gängiges Verfahren zur Erhöhung der inhalierbaren Fraktion von Inhalationspulvern (Jones und Price, 2006). Hierbei wird dem groben Laktoseträger mikronisierte Laktose zugesetzt, wodurch die Deagglomeration interaktiver Pulvermischungen entscheidend verbessert wird (Lucas et al., 1998, Zeng et al., 1998).

In der Literatur werden zwei grundlegende Hypothesen zur Erklärung des verbesserten Deagglomerationsverhaltens diskutiert. Eine der möglichen Erklärungen ist, dass die mikronisierte Laktose Bereiche hoher energetischer Dichte auf der Laktoseoberfläche absättigt und sich in Oberflächenkavitäten einlagern kann. Dies hat zur Folge, dass der Wirkstoff sich anschließend nicht mehr in Oberflächenkavitäten einlagern kann. Zudem wird der Wirkstoff anschließend vorzugsweise an Bereiche niedriger energetischer Dichte gebunden, von denen er

leichter wieder abgelöst werden kann. Diese Theorie wird auf der einen Seite durch eine Studie von Zeng et al. (1999) unterstützt, in der gezeigt werden konnte, dass die Reihenfolge des Mischens der drei Komponenten in ternären Mischungen von Bedeutung ist. Werden zuerst die mikronisierte Laktose und die grobe Laktose miteinander gemischt und dann mit dem Wirkstoff versehen, kommt es dort zu einer höheren Feinpartikelfraktion, als wenn die mikronisierte Laktose nach dem Mischen von Wirkstoff und grobem Träger hinzugefügt wird.

Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Lucas et al. (1998), die in ihrer Studie zeigen konnten, dass die Verbesserung des Deagglomerationsverhaltens der interaktiven Pulvermischungen nicht von der Mischreihenfolge abhängt. Dies führt zum zweiten Erklärungsansatz für den Einfluss zusätzlicher feiner Komponenten in Inhalationspulvern. Hierbei wird die Verbesserung der Deagglomeration von interaktiven Pulvermischungen über die Bildung von Agglomeraten aus der feinen Laktose und dem Wirkstoff während des Mischens begründet. Eine erhöhte Feinpartikelfraktion während der Inhalation kommt demzufolge dadurch zustande, dass sich der Wirkstoff von der feinen Laktose leichter löst, bedingt durch weniger Oberflächenunebenheiten der mikronisierten Laktose. Außerdem ist die Kontaktfläche des Wirkstoffes mit der mikronisierten Laktose geringer als mit der groben Laktose. Die Separation von Wirkstoff und Laktose wird hierdurch zusätzlich erleichtert. Ebenso, wie schon zuvor bei den Wirkstoffagglomeraten angesprochen, lassen sich solche Agglomerate aufgrund ihrer höheren Masse und ihres größeren Durchmessers leichter vom Träger lösen und erhöhen dadurch die inhalierbare Fraktion.

Der in diesem Kapitel beobachtete Anstieg der Feinpartikelfraktion nach Zusatz der gemahlenen, amorphen Laktose wird nicht ausschließlich über die Ausbildung von Agglomeraten zu begründen sein. Denn bei Ausbildung von Agglomeraten aus feinen, amorphen Laktosepartikeln und dem Wirkstoff, käme es bei der Rekristallisation zur Ausbildung von Feststoffbrücken innerhalb dieser Agglomerate. Dadurch wäre eher eine Verringerung der inhalierbaren Fraktion zu erwarten. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre jedoch die bevorzugte Anlagerung der feineren, amorphen Laktosepartikel in Oberflächenkavitäten.

Dadurch würde der in Oberflächenunebenheiten gebundene Wirkstoffanteil verringert werden. Bei Rekristallisation der amorphen Laktose in den Oberflächenkavitäten wäre kein so großer negativer Effekt auf die Feinpartikelfraktion wie bei der Agglomeratbildung zu erwarten.

Dass sich teilweise eine Verbesserung des Deagglomerationsverhaltens im Vergleich zur Verwendung des rein kristallinen Inhalac 230 als Träger gezeigt hat, lässt aber nicht den endgültigen Schluss zu, dass amorphe Anteile keinen negativen Effekt auf das Deagglomerationsverhalten von interaktiven Pulvermischungen haben, da der direkte Vergleich zum Einfluss des Zusatz gemahlener, kristalliner Laktose von gleicher Partikelgröße und Oberflächenbeschaffenheit nicht gegeben ist.

6.6 Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich für die Stabilitätsuntersuchungen interaktiver Pulvermischungen unter Verwendung unterschiedlicher Konzentrationen des hydrophoben Budesonids und des hydrophilen Salbutamolsulfats feststellen, dass die Rekristallisation zugesetzter gemahlener, amorpher Anteile in Anwesenheit des jeweiligen Wirkstoffes keine negativen Auswirkungen im Vergleich zur Verwendung des rein kristallinen Trägers auf das resultierende Deagglomerationsverhalten hat. Es kann hieraus allerdings nicht der generelle Schluss gezogen werden, dass amorphe Anteile in der Trägerlaktose keine negativen Auswirkungen auf das Deagglomerationsverhalten haben, da mit dem Zusatz der gemahlener, amorphen Laktose von anderer Partikelgröße und Oberflächenstruktur zusätzliche Eigenschaften des Trägers beeinflusst wurden.

Beim Vergleich interaktiver Pulvermischungen mit gleicher Wirkstoffkonzentration fällt auf, dass nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte für das hydrophobe Budesonid eine generell niedrigere Feinpartikelfraktion erhalten wird als für das hydrophile Salbutamolsulfat. Dies kann über die frühe Ausbildung von Kapillarkräften bei schon geringen Feuchten bedingt durch die schlechte Benetzbarkeit des Budesonids und die unterschiedliche Struktur der

Wirkstoffpartikel begründet werden. Nach der Lagerung bei 75% relativer Feuchte ergibt sich hingegen für das hydrophile Salbutamolsulfat eine sehr viel geringere Feinpartikelfraktion, bedingt durch den höheren Einfluss von Kapillarkräften und die Ausbildung von Feststoffbrücken mit steigender Feuchtigkeit im Pulver.

Die Verwendung von 0,4% Wirkstoff im Vergleich zu den Pulvermischungen mit 4% Wirkstoff zeigt sowohl für das Salbutamolsulfat als auch für das Budesonid eine deutlich geringere Feinpartikelfraktion. Dies lässt sich über den prozentual höheren, fester auf dem Träger gebundenen Wirkstoffanteil, begründen. Bei höheren Wirkstoffkonzentrationen liegt hingegen ein wesentlich größerer Anteil leichter ablösbarer Wirkstoffpartikel in der Pulvermischung vor.

7 Untersuchungen zum Einfluss der Partikelgröße amorpher Laktose auf Inhalationspulver

7.1 Einleitung

Nachdem im Rahmen der Stabilitätsuntersuchungen interaktiver Pulvermischungen mit Zusatz des gemahlenden, amorphen Inhalac 230 kein negativer Einfluss auf die Feinpartikelfraktion im Vergleich zur Verwendung des rein kristallinen Inhalac 230 als Träger beobachtet werden konnte, soll in diesem Kapitel unter anderem der Einfluss der Partikelgröße der zugesetzten amorphen Laktose näher untersucht werden.

Der Zusatz mikronisierter Laktose ist, wie in Kapitel 6.5.3.3 diskutiert, ein gängiges Verfahren, um die inhalierbare Fraktion von Inhalationspulvern zu erhöhen. Liegt die mikronisierte Laktose in amorpher Form vor, kommt es bei der Rekristallisation möglicherweise zum Einschluss des Wirkstoffes in feste Agglomerate, was eine Verschlechterung der Deagglomeration zur Folge haben kann. Da es bei der Rekristallisation in der Regel zu einem Partikelgrößenwachstum und einer Erhöhung der Oberflächenrauigkeit kommt, wurde die schon mikronisierte LH 300 verwendet, um einen direkten Vergleich des Deagglomerationsverhaltens zwischen Pulvermischungen mit kristallinem und amorphem Material herstellen zu können.

Als Wirkstoff wurde an dieser Stelle Salbutamolsulfat gewählt, da aufgrund der Ergebnisse aus dem vorherigen Kapitel auf diesen größere Effekte des Trägers und daraus resultierende Unterschiede im Deagglomerationsverhalten erwartet wurden. Da es in Kapitel 6.5.3.1 für die Pulver mit 0,4% Salbutamolsulfat zu sehr geringen Feinpartikelfraktionen nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte kam, wurde für die sich anschließenden Untersuchungen eine mittlere Wirkstoffkonzentration von 2% gewählt.

Auf der einen Seite wurden interaktive Pulvermischungen mit amorpher LH 300, die in der Planetenkugelmühle amorphisiert wurde, untersucht. Da es bedingt durch den hohen und langen Energieeintrag während der Mahlprozesses in der Planetenkugelmühle zu einem Wachstum der Laktosepartikel kam, wurde andererseits eine interaktive Pulvermischung hergestellt, für die die in der Kugelmühle amorphisierte LH 300 anschließend in der Luftstrahlmühle gemahlen wurde. Auf diese Weise wurde eine vergleichbare Partikelgröße zum kristallinen Ausgangsmaterial erhalten. Nachdem sowohl für die Mischungen mit der in der Kugelmühle als auch mit der in der Luftstrahlmühle gemahlenen, amorphen Laktose eine deutliche Verringerung der Feinpartikelfraktion beobachtet werden konnte, wurde die Laktose in der Planetenkugelmühle unterschiedlich lang gemahlen. Hierüber ließ sich teilamorphe Laktose erhalten, die wiederum in 5%-iger Konzentration zur kristallinen Trägerlaktose hinzugesetzt wurde. Dies sollte zeigen in wie weit die Verschlechterung des Deagglomerationsverhaltens im Vergleich zum Zusatz der kristallinen mikronisierten Laktose mit der Partikelgröße der amorphen Laktose oder auch mit dem Amorphisierungsgrad zusammenhängt. Kapitel 7.2 beschäftigt sich mit dem Vergleich des Zusatzes luftstrahlgemahlener und kugelmahlener, amorpher Laktose. Das sich anschließende Kapitel 7.3 zeigt dann den Einfluss der teilamorphisierten Laktose. In Kapitel 1.1 werden abschließend die Ergebnisse eines statistischen Versuchsplanes zum Einfluss unterschiedlicher amorpher Anteile im Laktoseträger diskutiert.

7.2 Untersuchungen zum Zusatz mikronisierter amorpher Laktose

7.2.1 Charakterisierung der Träger

Die beiden Träger mit Zusatz von 5% amorpher Laktose, aus der Kugelmühle oder der Luftstrahlmühle, wurden mit dem rein kristallinen Inhalac 230 und dem Zusatz von 5% kristalliner LH 300 verglichen.

7.2.1.1 Partikelgrößen

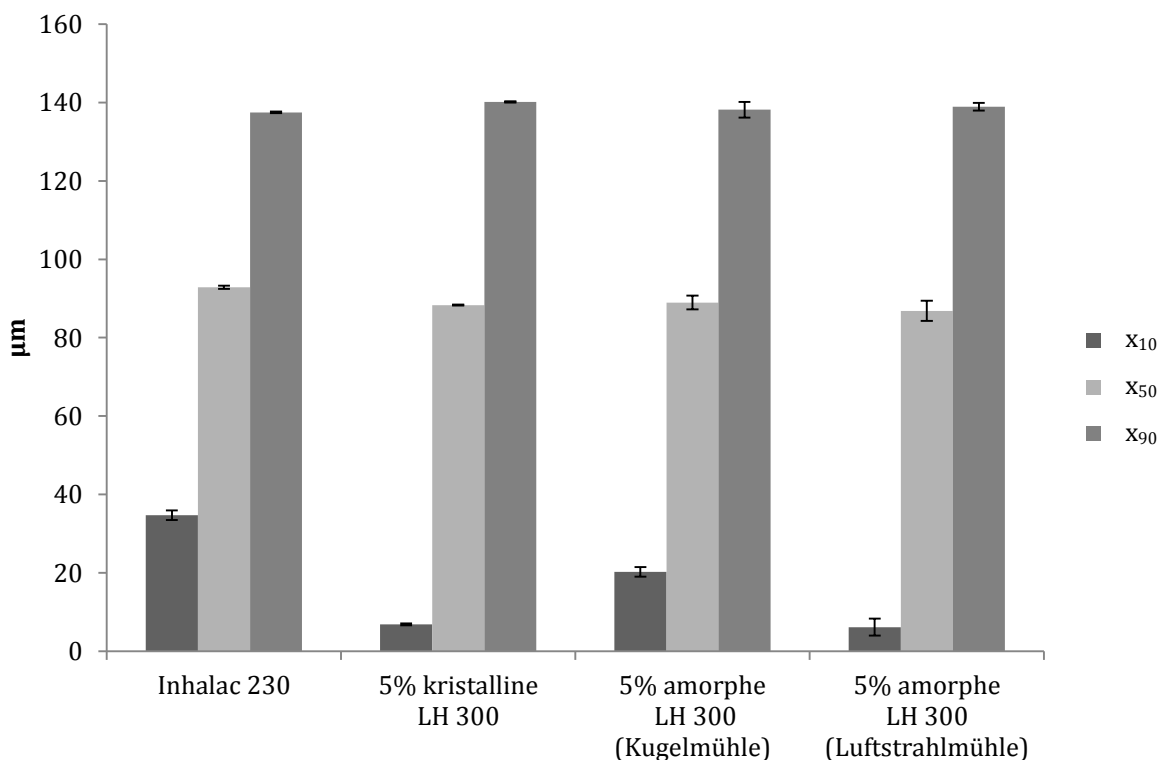


Abbildung 7.2-1: Kenngrößen Partikelgrößenverteilung der vier verwendeten Trägerlaktosen

In Abbildung 7.2-1 sind die Partikelgrößen der Trägerlaktosen dargestellt. Während die x_{50} -Werte und x_{90} -Werte bei allen vier Trägerlaktosen weitestgehend gleich ausfallen, zeigt sich im x_{10} -Wert ein Unterschied, der auf einen unterschiedlichen Feinanteil der Träger schließen lässt. Durch den Zusatz von 5% der kristallinen LH 300 sinkt der Wert für den x_{10} von ursprünglichen

34,7±1,2 µm für das reine Inhalac 230 auf 6,9±0,2 µm. Ein ähnlicher Effekt zeigt sich für den Träger mit der in der Luftstrahlmühle gemahlenen LH 300, der einen x_{10} -Wert von 6,2±2,2 µm aufweist. Auch durch den Zusatz der in der Kugelmühle amorphisierten LH 300 ergibt sich ein erhöhter Feinanteil. Der x_{10} -Wert von 20,3±1,2 µm liegt für diesen Träger über dem der Träger mit der mikronisierten LH 300. Dies hängt damit zusammen, dass es durch den hohen und langen Energieeintrag während der Amorphisierung in der Kugelmühle zu einem Partikelgrößenwachstum bedingt durch die Zusammenlagerung einzelner Partikel kommt.

7.2.1.2 Sorptionsisothermen und amorphe Anteile

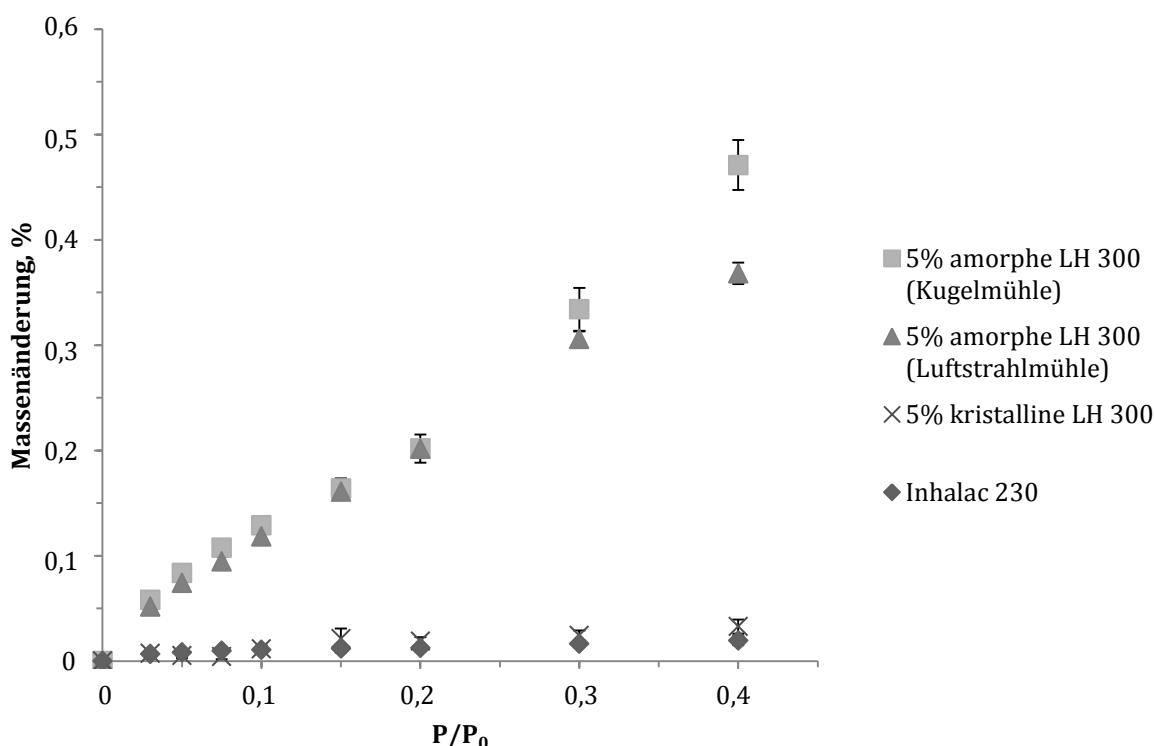


Abbildung 7.2-2: Sorptionsisothermen der vier verwendeten Trägerlaktosen

Der kalkulierte amorphe Anteil für den Träger mit 5% in der Kugelmühle amorphisiertem LH 300 beträgt 4,8±0,2%. Für den Träger mit der in der Luftstrahlmühle amorphisierten Laktose liegt der kalkulierte amorphe Anteil bei 5,1±0,2%. Dieser Unterschied im amorphen Anteil ist auf die Schwankungen für

den komplett amorphen Standard und die Zugrundelegung des Mittelwertes aus den gemahlenen Laktosechargen für die Kalkulation zurückzuführen. Es kann davon ausgegangen werden, dass 5% des gemahlenen, amorphen Materials in den beiden Trägern vorhanden sind und es nicht zuvor zur Rekristallisation gekommen ist.

Die Sorptionsisothermen für die beiden kristallinen Träger zeigen erwartungsgemäß nur ein sehr geringes Wasseraufnahmevermögen (Abbildung 7.2-2).

7.2.1.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

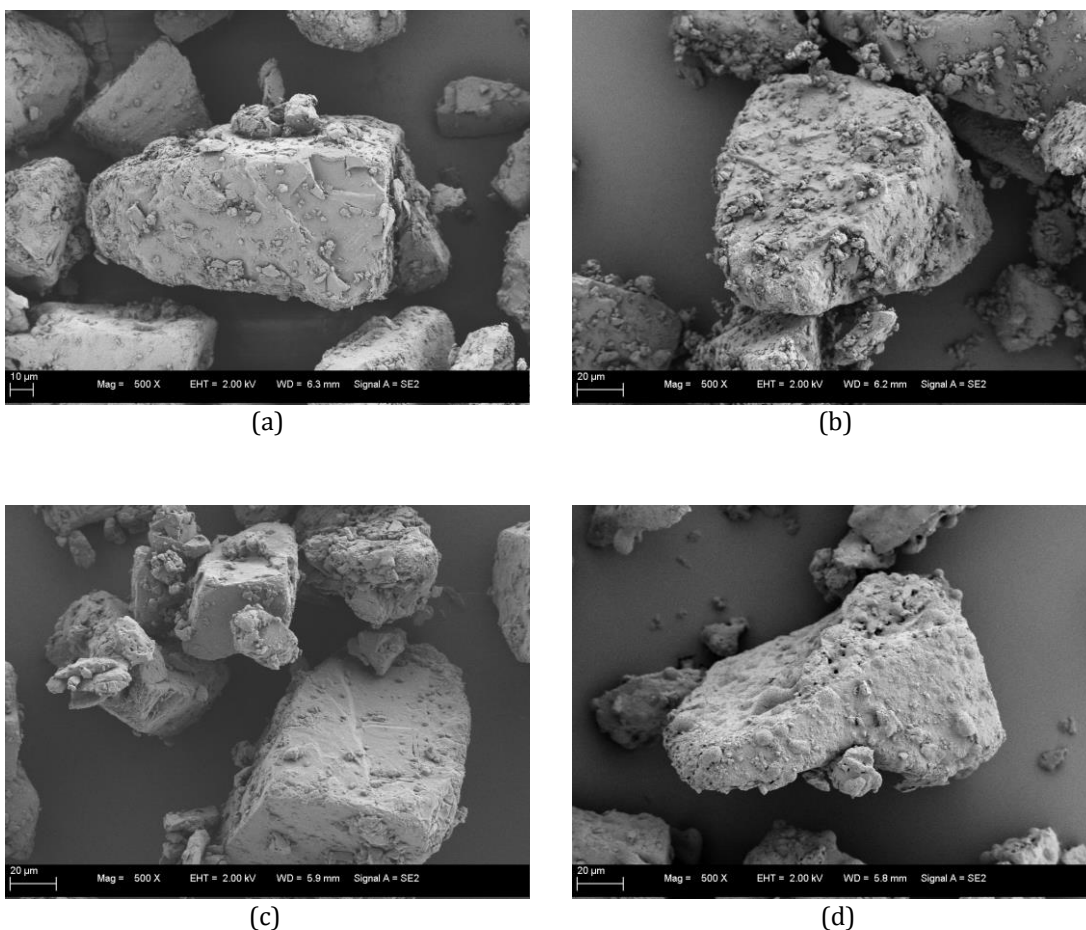


Abbildung 7.2-3: REM-Aufnahmen der vier Trägerlaktosen (a: Inhalac 230, b: nach Zusatz von 5% kristalliner LH 300, c: nach Zusatz von 5% amorpher LH 300 aus der Kugelmühle, d: nach Zusatz von 5% amorpher LH 300 aus der Luftstrahlmühle

Auf den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Träger sind deutlich die auch schon bei der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mittels Laserdiffraktometrie beobachteten Unterschiede im Feinanteil der Laktose zu erkennen. Während das reine, kristalline Inhalac 230 (Abbildung 7.2-3 a) nur einen geringen Feinanteil auf der Oberfläche der groben Laktosepartikel aufweist, zeigt sich nach Zusatz von 5% der mikronisierten LH 300 eine deutliche Zunahme im Feinanteil (Abbildung 7.2-3 b). Die mikronisierten Laktosepartikel haben sich während des Mischens mit der groben Trägerlaktose auf dessen Oberfläche angelagert. Die Oberfläche der groben Laktose ist derart mit mikronisierter Laktose abgesättigt, dass es teilweise zur Ausbildung von Agglomeraten aus der mikronisierter Laktose kommt. Durch die Zusammenlagerung einzelner mikronisierter Laktosepartikel während der Mahlung in der Planetenkugelmühle lässt sich durch deren Zusatz trotz des im Vergleich erhöhten Feinanteils optisch kein Unterschied zum rein kristallinen Inhalac 230 erkennen (Abbildung 7.2-3 c). Für den Zusatz der in der Luftstrahlmühle gemahlenen, amorphen LH 300, zeigt sich ebenfalls ein erhöhter Feinanteil, der auf den Bildern allerdings durch anscheinend schon stattgefundene Rekristallisation mit der Oberfläche der groben Laktosepartikel verschmolzen ist (Abbildung 7.2-3 d). Durch die Bestimmung des amorphen Anteils in den Trägern nach Herstellung der interaktiven Pulvermischung, war aber sichergestellt, dass die interaktive Pulvermischung den korrekten amorphen Anteil aufwies.

7.2.2 Interaktive Pulvermischungen

7.2.2.1 Aerodynamische Charakterisierung

Abbildung 7.2-4 zeigt die Feinpartikelfractionen der vier interaktiven Pulvermischungen nach der 24-stündigen Lagerung bei 45% und 75% relativer Feuchte.

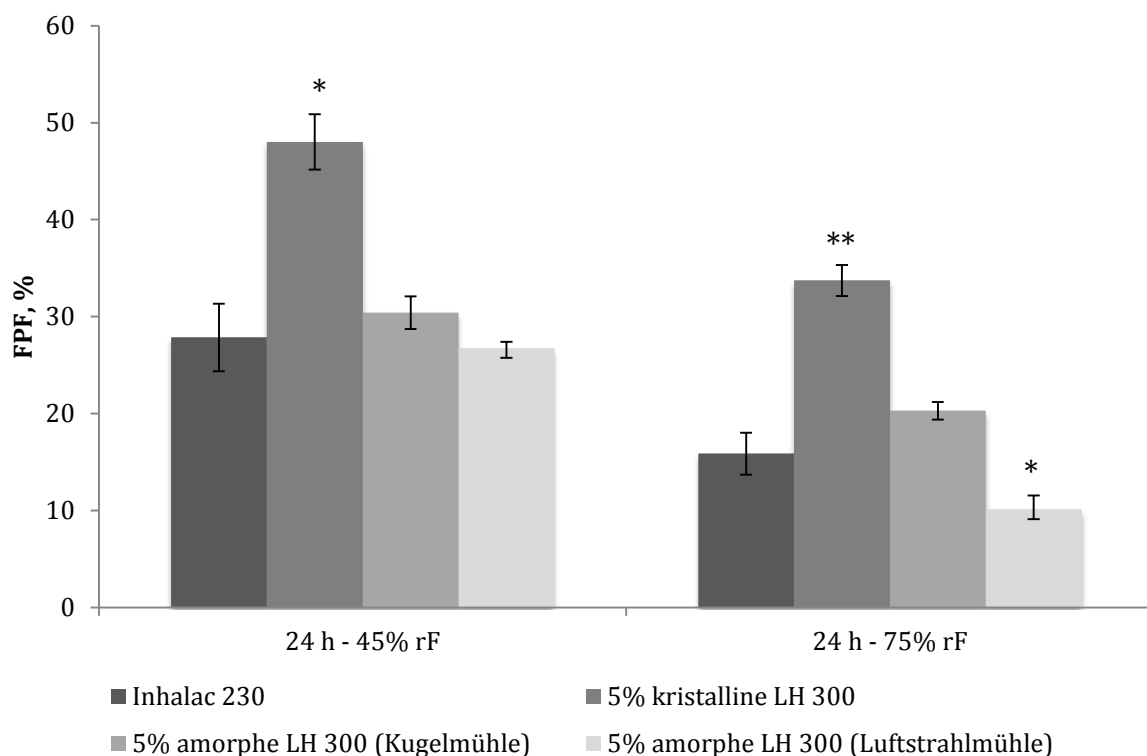


Abbildung 7.2-4: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS
(*: $0,01 > p > 0,001$; **: $p \leq 0,001$)

Für die Verwendung des rein kristallinen Inhalac 230 ergibt sich nach 24-stündiger Lagerung bei 45% relativer Feuchte eine Feinpartikelfraktion von $27,8 \pm 3,5\%$. Nach der Lagerung bei 75% relativer Feuchte liegt diese, wie aufgrund der Ergebnisse aus Kapitel 6 zu erwarten war, durch den steigenden Einflusses von Kapillarkräften mit $15,8 \pm 2,2\%$ deutlich niedriger. Durch den Zusatz von 5% der kristallinen LH 300 kommt es bei beiden Lagerungsfeuchten zu einem signifikanten Anstieg der Feinpartikelfractionen auf $48,0 \pm 0,9\%$ nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte beziehungsweise $33,7 \pm 1,6\%$ nach Lagerung

bei 75% relativer Feuchte. Sowohl für den Zusatz des in der Kugelmühle, als auch für das in der Luftstrahlmühle gemahlene, amorphe LH 300 kommt es nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte zu Feinpartikelfractionen, die auf dem Niveau des Wertes für die interaktive Pulvermischung mit dem rein kristallinen Inhalac 230 liegen. Bei 75% relativer Feuchte liegt die Feinpartikelfraktion des Pulvers mit dem luftstrahlgemahlene amorphem Anteil dagegen signifikant niedriger.

Abbildungen 7.2-5 und 7.2-6 zeigen die entsprechenden Depositionsprofile bei 45% und bei 75% relativer Feuchte.

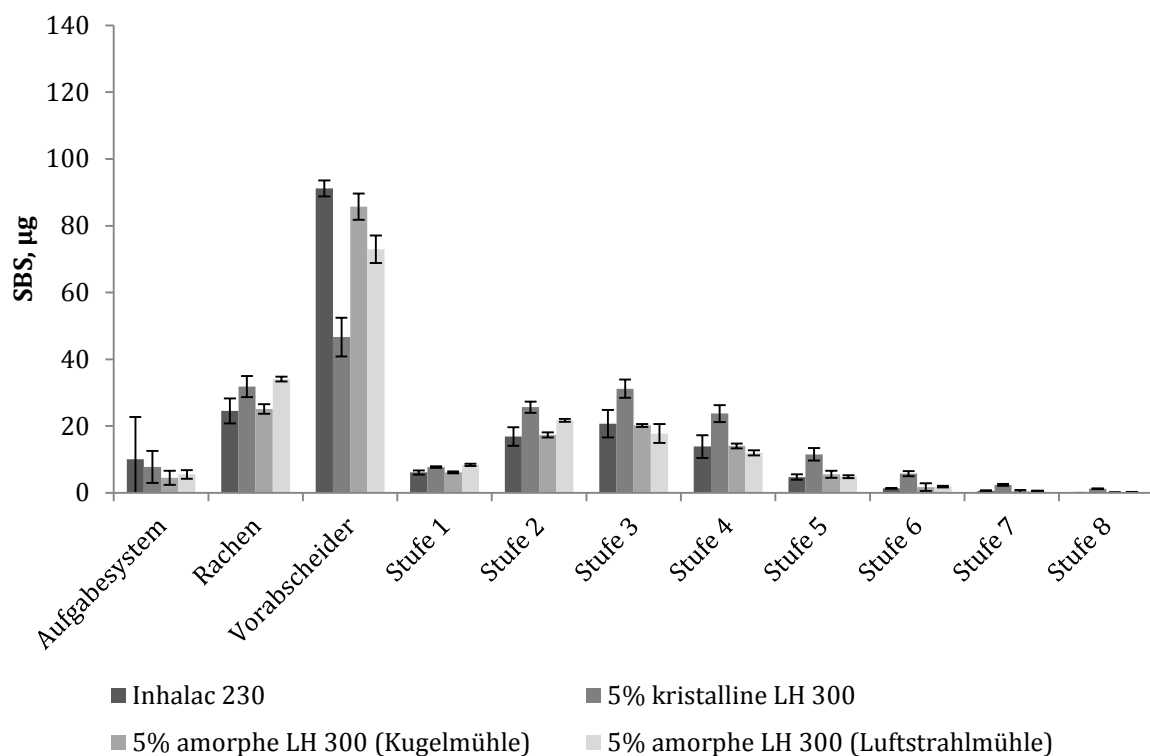


Abbildung 7.2-5: Depositionsprofil der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS nach Lagerung bei 45% rF

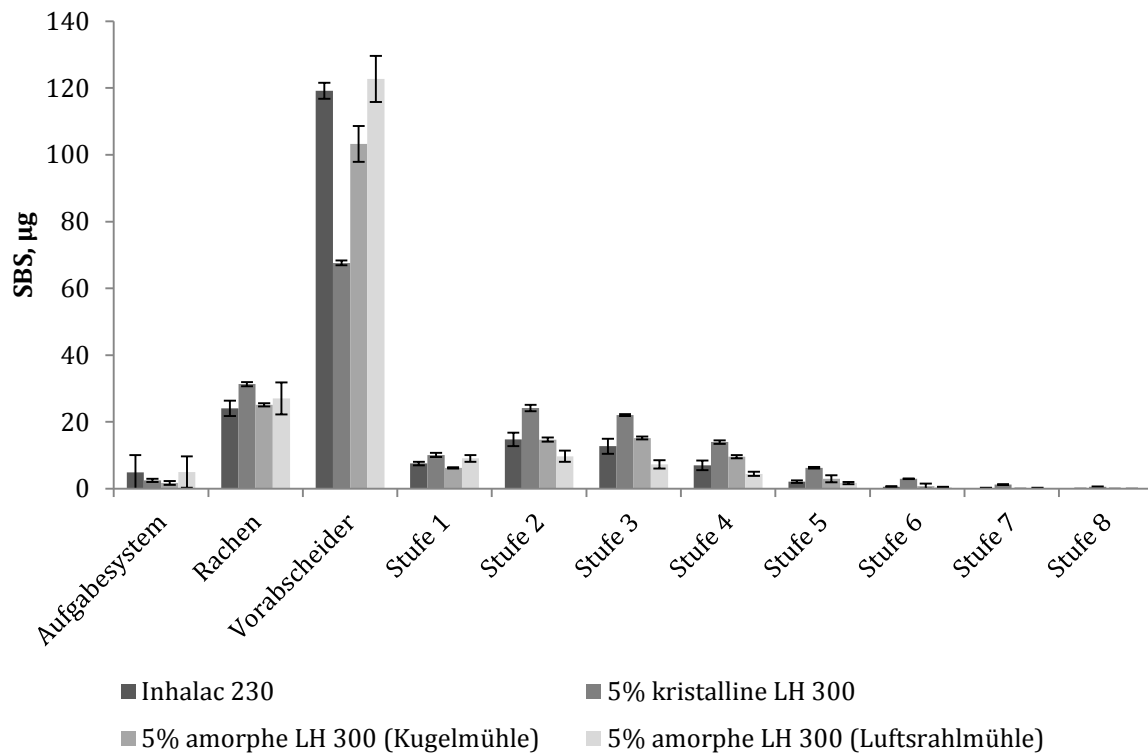
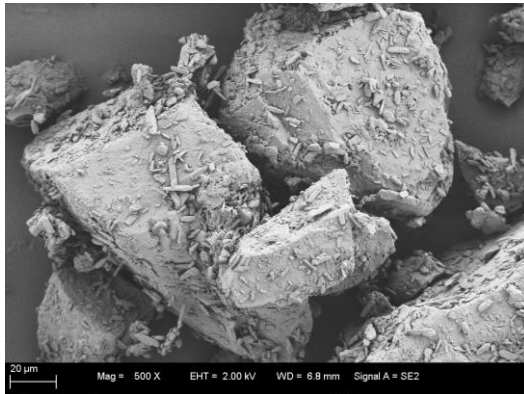


Abbildung 7.2-6: Depositionsprofil der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS nach Lagerung bei 75% rF

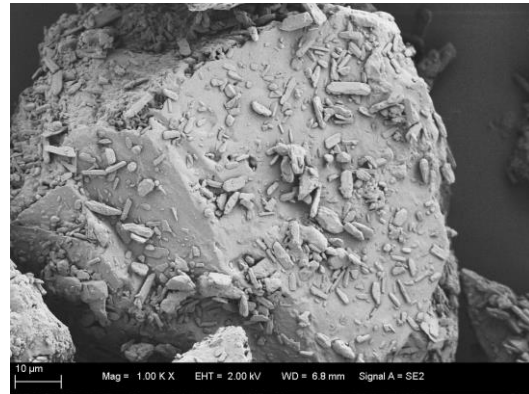
Die Depositionsprofile zeigen in Übereinstimmung mit den Feinpartikelfraktionen, dass es für alle Pulver zu einer recht hohen Deposition im Rachen kommt, welche bei 75% relativer Feuchte ausgeprägter ist als nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte. Die einzige Ausnahme bildet die Pulvermischung mit dem Zusatz der mikronisierten, kristallinen Laktose. Hier kommt es zu einer wesentlich geringeren Rachenabscheidung und erhöhten Deposition auf den nachfolgenden Stufen.

7.2.2.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Da sich optisch für alle vier Mischungen kein Unterschied zwischen der Lagerung bei 45% und 75% relativer Feuchte ergab, sind nur die Aufnahmen nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte dargestellt.



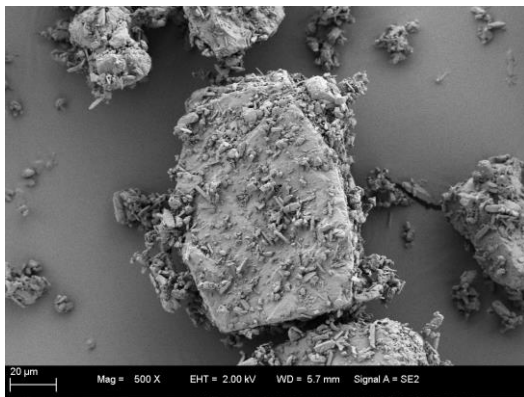
(a)



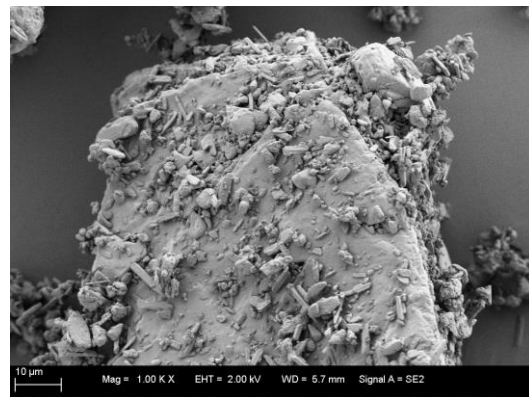
(b)

Abbildung 7.2-7: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit Inhalac 230 und 2% SBS nach Lagerung bei 75% rF

(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)



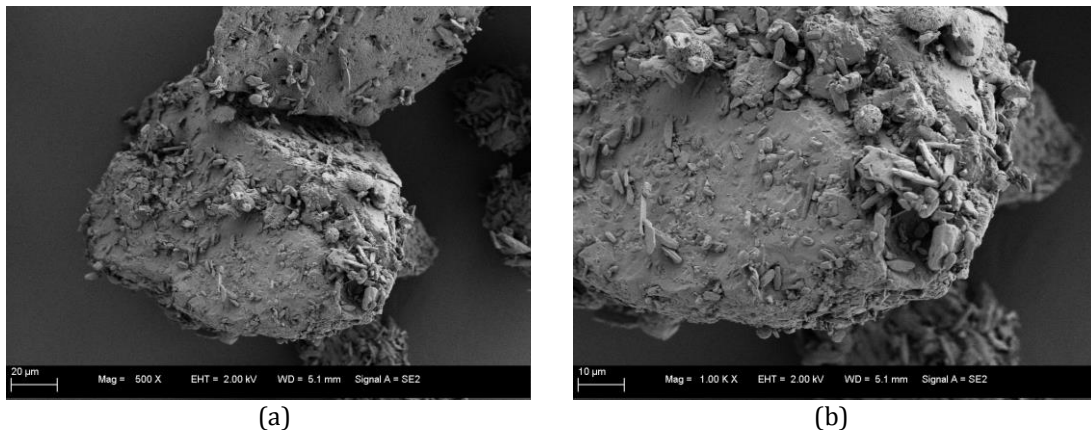
(a)



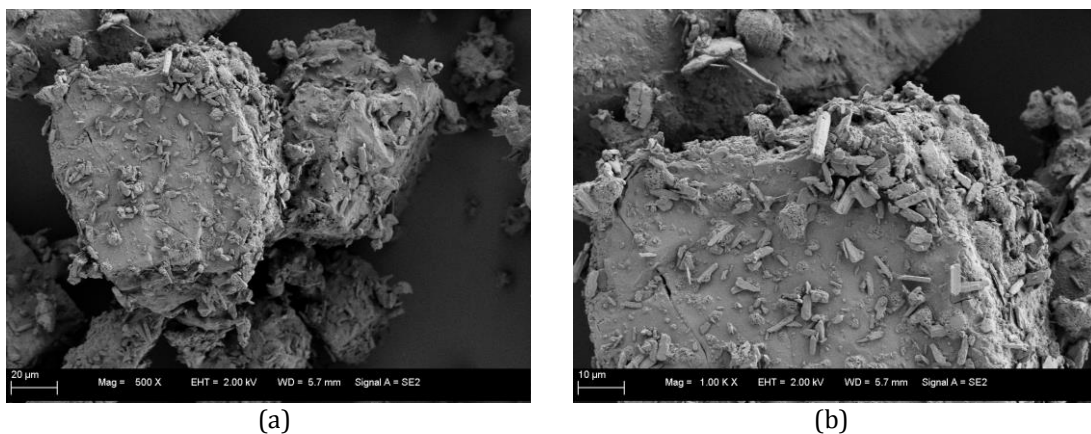
(b)

Abbildung 7.2-8: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% kristallinem LH 300 und 2% SBS nach Lagerung bei 75% rF

(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)



**Abbildung 7.2-9: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% in der Kugelmühle amorphisiertem LH 300 und 2% SBS nach Lagerung bei 75% rF
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**



**Abbildung 7.2-10: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% in der Lufstrahlmühle amorphisiertem LH 300 und 2% SBS
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen für das rein kristalline Inhalac 230 die Anlagerung der nadelförmigen Salbutamolsulfatpartikel auf der Trägerlaktose (Abbildung 7.2-7). Für den Zusatz von kristallinem LH 300 lässt sich die Ausbildung von lockeren Agglomeraten zwischen der mikronisierten Laktose und dem Salbutamolsulfat auf der Oberfläche der groben Laktosepartikel erkennen. Zudem wird deutlich, dass sich durch den insgesamt sehr hohen Feinanteil zusätzlich frei vorliegende Agglomerate aus den mikronisierten Partikeln bilden (Abbildung 7.2-8).

Für den Zusatz der in der Kugelmühle gemahlenen, amorphen Laktose lassen sich optisch einige Anzeichen für Verklebungen zwischen der Laktose und dem Wirkstoff ausmachen. Die rekristallisierte, amorphe Laktose ist in Form

vergleichsweise rauer, kugelförmiger Partikel zu erkennen (Abbildung 7.2-9). Für die luftstrahlgemahlene, amorphe Laktose ergibt sich ein noch ausgeprägteres Verschmelzen der mikronisierten, amorphen Laktose auf der Oberfläche der kristallinen Laktose, wobei der Wirkstoff teilweise mit eingeschlossen wird. Zusätzlich kommt es zur Ausbildung fest miteinander verschmolzener Agglomerate aus der mikronisierten, amorphen Laktose und dem Salbutamolsulfat (Abbildung 7.2-10).

7.2.3 Diskussion der Ergebnisse

Dass der Zusatz der kristallinen LH 300 zum Träger zu einer Erhöhung der Feinpartikelfraktion führt, lässt sich mit der schon in Kapitel 6.5.3.3 diskutierten verbesserten Deagglomeration von Pulvern nach Zusatz von mikronisiertem Hilfsstoff zum Träger erklären. Es kommt hierbei zum einen zur Absättigung von Oberflächenkavitäten und Bereichen hoher energetischer Dichte auf der Laktoseoberfläche. Die bevorzugte Anlagerung der mikronisierten Laktose in Vertiefungen auf der Oberfläche der Laktose ist auch auf den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen des reinen Trägers zu erkennen (Abbildung 7.2-3). Dadurch wird der anschließend zugemischte Wirkstoff an schwächeren Bindungsstellen auf der Trägerlaktose gebunden. Des Weiteren hat sich für die interaktive Pulvermischung eine Bildung von Agglomeraten aus mikronisierter Laktose und Wirkstoff gezeigt. Die Agglomerate können durch ihre höhere Masse und Größe leichter durch den Luftstrom von der groben Trägerlaktose abgelöst werden, was zu einer erhöhten Deposition von Wirkstoffpartikeln in der Lunge führt.

Wird nun die mikronisierte Laktose in amorpher Form zugesetzt, rekristallisiert diese bei der Lagerung, bedingt durch die feuchte Umgebungsluft. Es kommt in der Folge zur Ausbildung von Feststoffbrücken (Ward und Schultz, 1995) und einer Verschmelzung der amorphen Partikel auf der Oberfläche der groben Trägerlaktose und zu festen Agglomeraten, in die der Wirkstoff mit eingeschlossen werden kann. Entsprechende Ergebnisse konnten in einer dieser

Arbeit vorangegangenen Studie für interaktive Pulvermischungen mit 4% Budesonid, bei der sprühgetrocknete, amorphe Laktose zur Trägerlaktose hinzugegeben wurde, gezeigt werden (Wittmann, 2010). Auch hier führte die über Sprühtrocknung amorphisierte, mikronisierte Laktose nach der Rekristallisation zu einem festen Einschluss der Wirkstoffpartikel, so dass es zu einer Verringerung der Feinpartikelfraktion kam. Ähnliche Beobachtungen konnten von Young und Price (2004) gemacht werden. Durch den Mikronisierungsprozess eingebrachte amorphe Bereiche in Salbutamolsulfat führten auch dort nach der Rekristallisation zu einer verringerten Feinpartikelfraktion.

Da es für die amorphe Laktose in mikronisierter Form zu einer deutlichen Abnahme der Feinpartikelfraktion gekommen ist, kann an dieser Stelle die Aussage getroffen werden, dass amorphe Anteile in Laktoseträgern das Deagglomerationsverhalten von Inhalationspulvern deutlich verschlechtern können.

Ebenso wie für den Zusatz der luftstrahlgemahlenen, amorphen Laktose wurde für den Träger mit der in der Kugelmühle amorphisierten Laktose eine ähnlich geringe Feinpartikelfraktion erhalten. Da die in der Kugelmühle amorphisierten Laktosepartikel nicht ausschließlich von mikronisiertem Charakter sind, bleibt die Fragestellung, ob die Abnahme der Feinpartikelfraktion im Vergleich zum Zusatz der kristallinen LH 300 durch die größere Partikelgröße bedingt ist, oder ob es auch bei Zusatz der etwas gröberen amorphen Laktose zur festeren Bindung des Wirkstoffes auf der Laktose durch die Rekristallisation der amorphen Anteile kommt. Diese Fragestellung soll in Kapitel 7.3 genauer untersucht werden.

7.3 Untersuchungen zum Zusatz teilamorphisierter Laktose

7.3.1 Einleitung

Um weitergehend zu untersuchen inwieweit die Partikelgröße oder der amorphe Anteil die Feinpartikelfractionen interaktiver Pulvermischungen beeinflussen, wurde teilamorphisierte LH 300 mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen an amorphen Anteilen in der Kugelmühle hergestellt und wiederum in einer Konzentration von 5% zum kristallinen Inhalac 230 zugesetzt. Hiermit wurden interaktive Pulvermischungen mit 2% Salbutamolsulfat hergestellt. Diese beiden interaktiven Pulvermischungen wurden charakterisiert und ihr Deagglomerationsverhalten auf der einen Seite mit dem der Pulvermischung mit 5% der kristallinen LH 300 und auf der anderen Seite mit der Pulvermischung mit 5% der in der Kugelmühle vollständig amorphisierten LH 300 verglichen.

7.3.2 Charakterisierung der Träger

7.3.2.1 Partikelgrößenverteilung

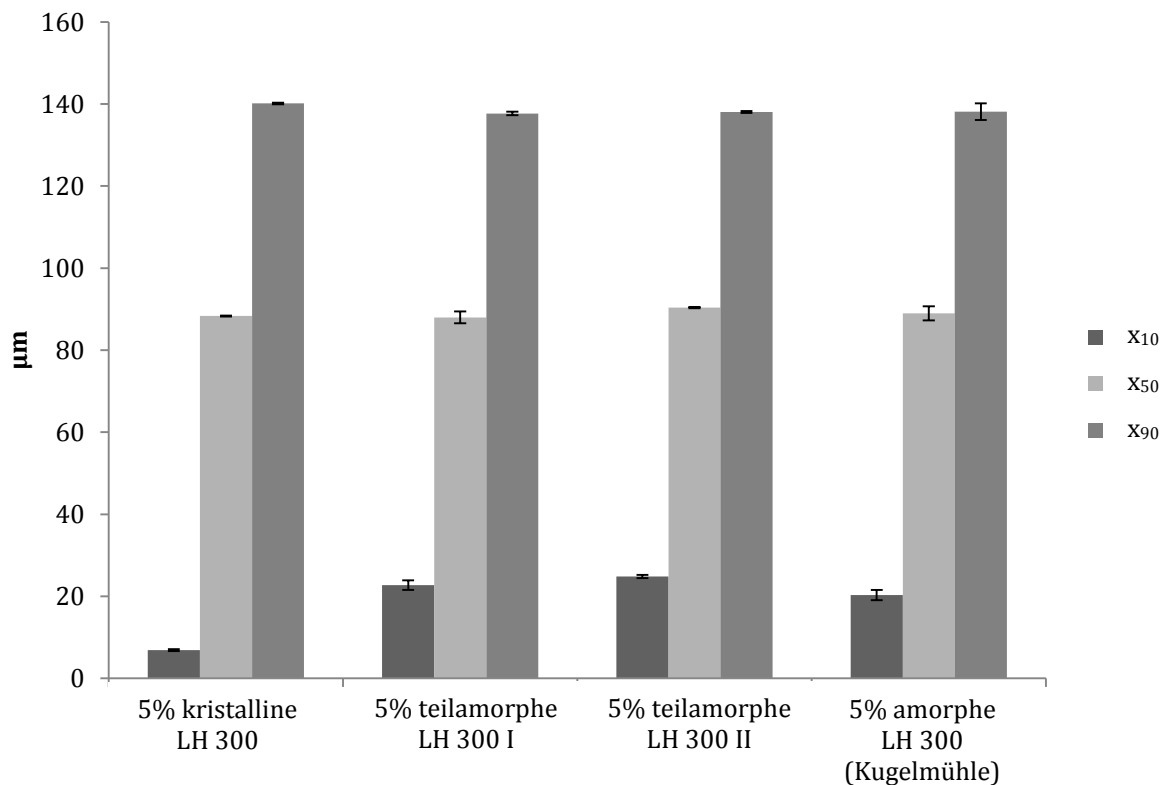


Abbildung 7.3-1: Kenngrößen der Partikelgrößenverteilung der teilamorphisierten Trägerlaktosen

In der Kugelmühle kommt es auch für die teilamorphisierte LH 300 zu einer Zusammenlagerung einzelner Partikel und zu einer ähnlichen Partikelgrößenverteilung wie für die vollständig amorphisierte Laktose.

In der Folge zeigt der Vergleich der Partikelgrößen der Träger mit Zusatz von jeweils 5% des gemahlene Materials vergleichbare Partikelgrößenverteilungen (Abbildung 7.3-1). Der Feinanteil für den Träger mit 5% der kristallinen LH 300 liegt hingegen wesentlich höher.

7.3.2.2 Sorptionsisothermen und amorphe Anteile

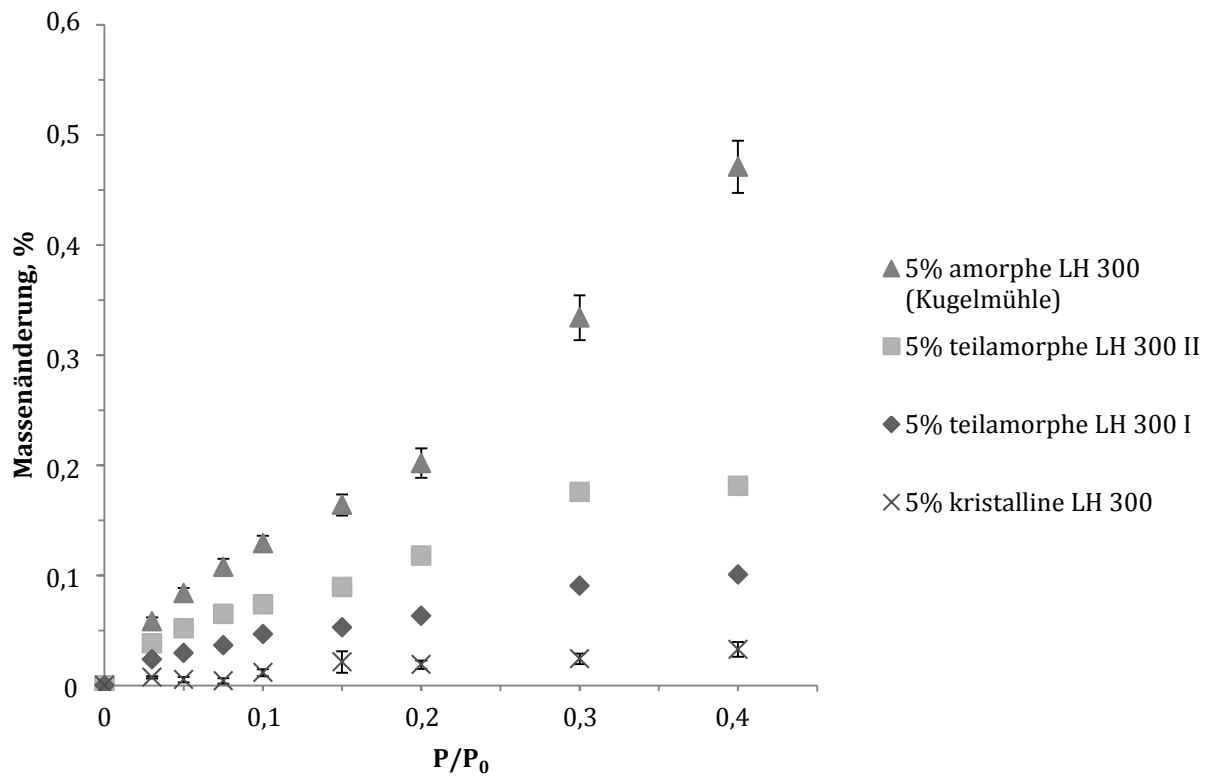
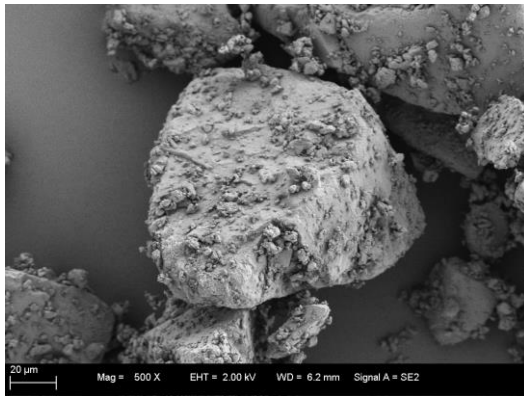


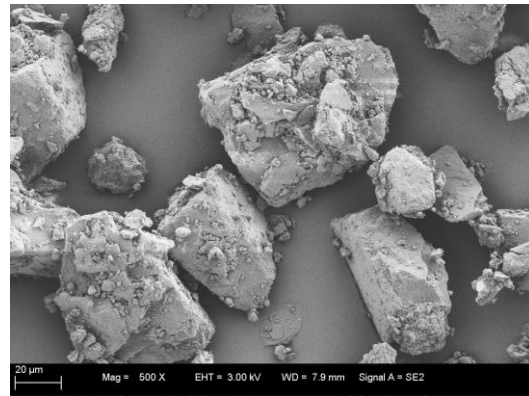
Abbildung 7.3-2: Sorptionsisothermen der Träger mit teilmorphisierter LH 300

Die Sorptionsisothermen zeigen deutliche Unterschiede im Wasseraufnahmevermögen der Trägerlaktose in Abhängigkeit vom Amorphisierungsgrad (Abbildung 7.3-2). Für die beiden Träger mit dem Zusatz der teilmorphen LH 300 ergibt sich ein kalkulierter amorpher Anteil von $1,1 \pm 0,1\%$ beziehungsweise $2,3 \pm 0,2\%$.

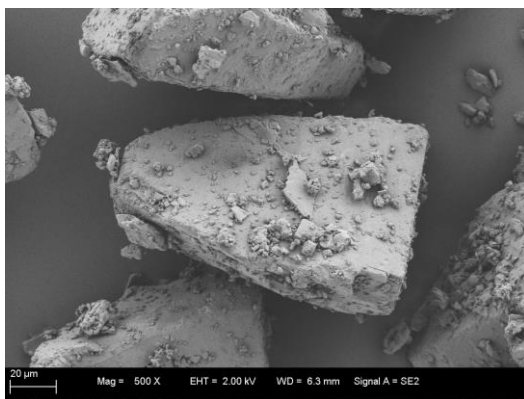
7.3.2.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen



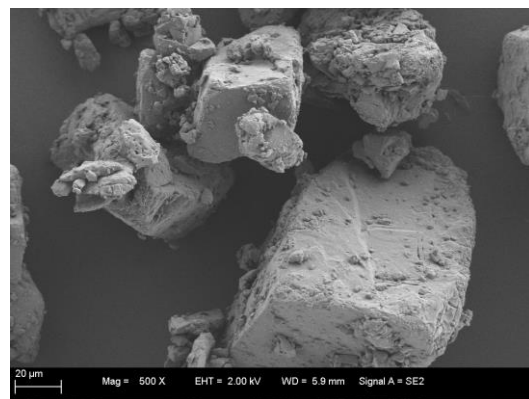
(a)



(b)



(c)



(d)

Abbildung 7.3-3: REM-Aufnahmen der vier Trägerlaktosen
(a: nach Zusatz von 5% kristalliner LH 300, b: nach Zusatz von 5% teilamorpher LH 300 I,
c: nach Zusatz von 5% teilamorpher LH 300 I,
d: nach Zusatz von 5% amorpher LH 300 aus der Kugelmühle)

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen in Übereinstimmung mit der ermittelten Partikelgrößenverteilung, dass für die Träger mit Zusatz der teilamorphisierten LH 300 wesentlich weniger feine Partikel auf der Oberfläche der Laktose gebunden (Abbildung 7.3-3 b u. c) sind als nach Zusatz der kristallinen LH 300 (Abbildung 7.3-3 a). Im Vergleich zum Zusatz der vollständig amorphisierten Laktose (Abbildung 7.3-3 d), lässt sich bedingt durch die kürzere Mahldauer, an manchen Stellen ein geringfügig höherer Feinanteil erkennen.

7.3.3 Interaktive Pulvermischungen

7.3.3.1 Aerodynamische Charakterisierung

Abbildung 7.3-4 zeigt die Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit der teilamorphisierten LH 300. Zum Vergleich sind hier noch einmal die Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischung mit 5% der kristallinen LH 300 und derjenigen mit 5% der komplett in der Kugelmühle amorphisierten LH 300 dargestellt.

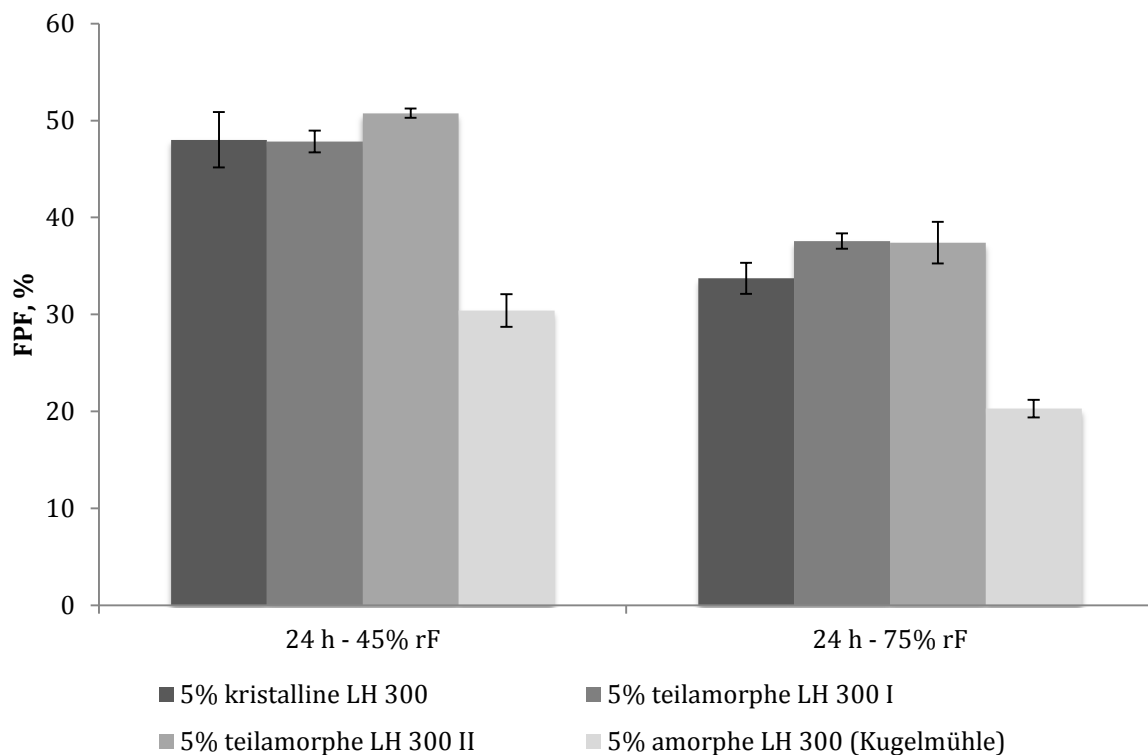


Abbildung 7.3-4: Feinpartikelfractionen interaktiver Pulvermischungen mit 5% LH 300 mit unterschiedlichen amorphen Anteilen und 2% SBS

Es zeigt sich für beide Lagerungsfeuchten, dass die Feinpartikelfractionen der teilamorphisierten Proben denen der Pulvermischung mit Zusatz von 5% des kristallinen LH 300 gleichen. Erst bei Zusatz der vollständig amorphisierten Laktose kommt es zu einem sprunghaften Abfall in der Feinpartikelfraktion, sowohl nach Lagerung bei 45% als auch bei 75% relativer Feuchte.

Die Abbildungen 7.3-5 und 7.3-6 zeigen die dazugehörigen Depositionsprofile.

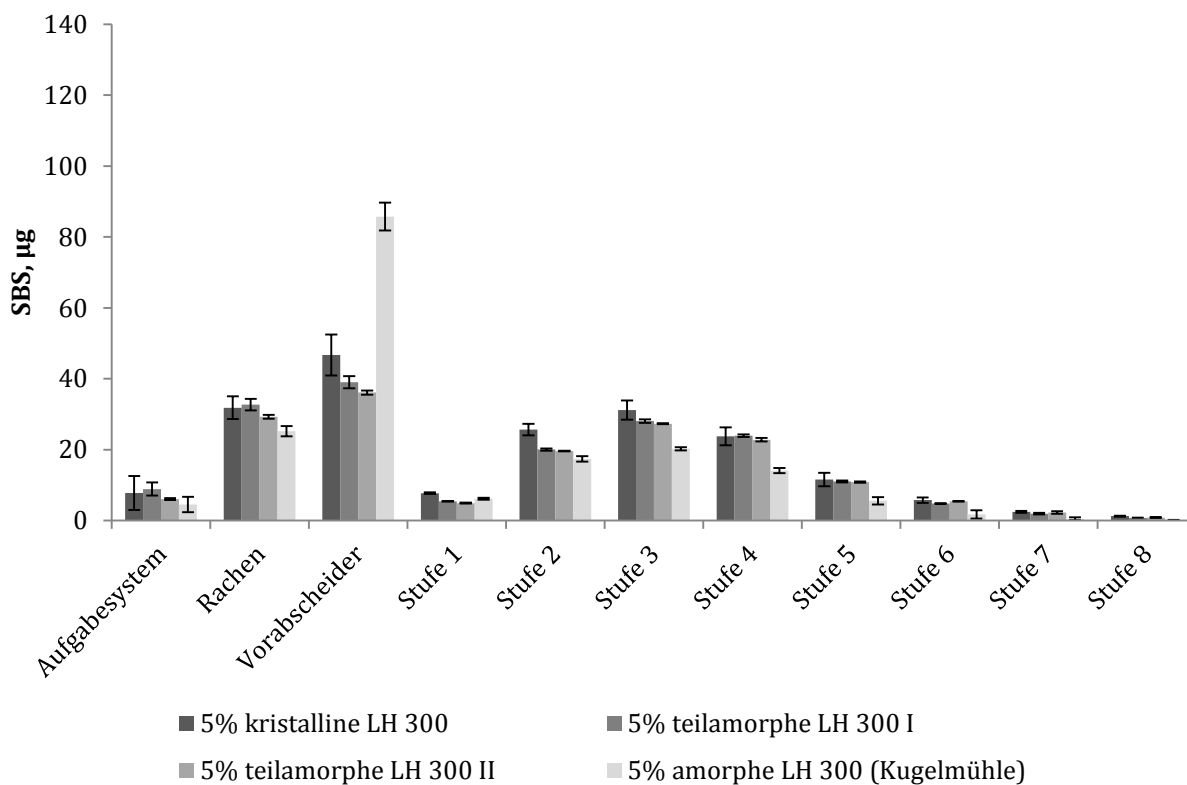


Abbildung 7.3-5: Depositionsprofil interaktiver Pulvermischungen mit 5% LH 300 mit unterschiedlichen amorphen Anteilen und 2% SBS nach Lagerung bei 45% rF

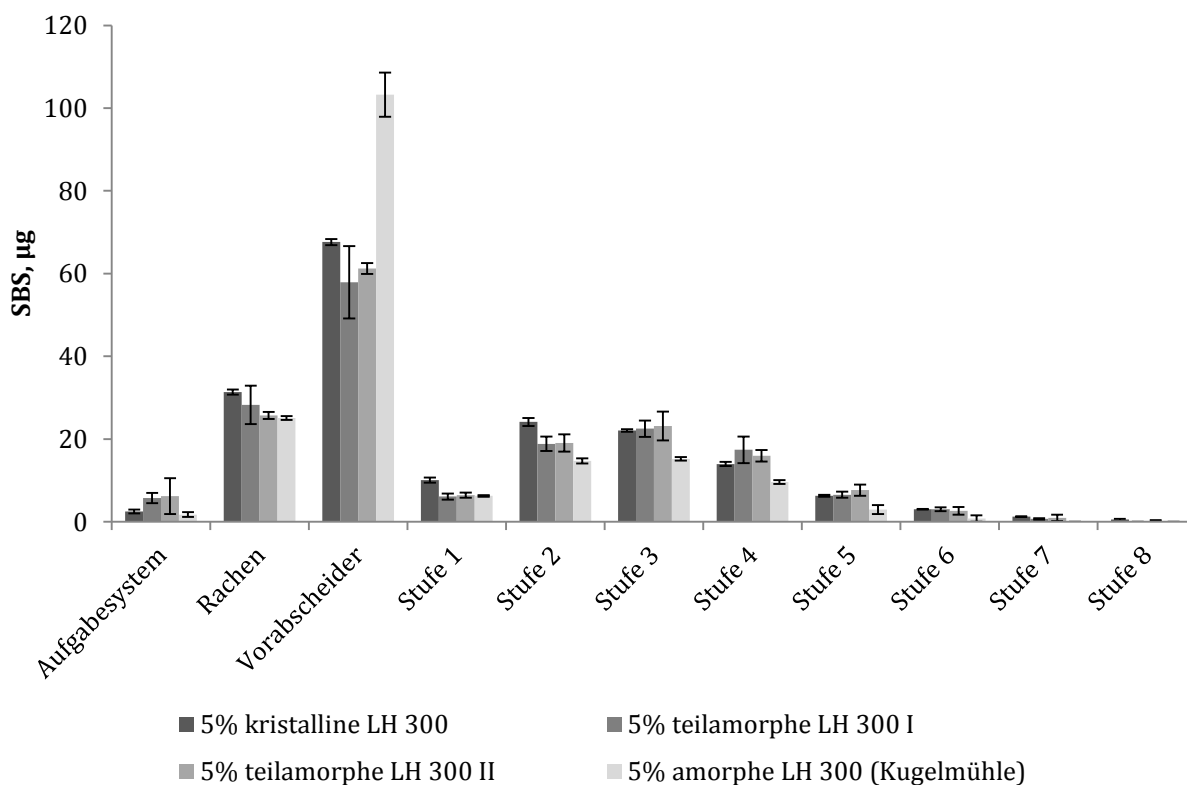


Abbildung 7.3-6: Depositionsprofil interaktiver Pulvermischungen mit 5% LH 300 mit unterschiedlichen amorphen Anteilen und 2% SBS nach Lagerung bei 75% rF

Die Depositionsprofile zeigen bei beiden Lagerungsfeuchten mit Ausnahme der Pulvermischung unter Zusatz der vollständig amorphisierten Laktose eine ähnliches Abscheidemuster im Rachen, im Vorabscheider und auf den einzelnen Stufen. Im Vergleich dazu ist die Wirkstoffkonzentration im Vorabscheider nach Zusatz der komplett amorphisierten Laktose erhöht. Dementsprechend verringert sich die Menge des abgeschiedenen Wirkstoffs auf den nachfolgenden Abscheidestufen.

7.3.3.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Im Folgenden werden die Aufnahmen für die beiden interaktiven Pulvermischungen mit der in der Kugelmühle teilmorphisierten LH 300 dargestellt. Für die Aufnahmen der interaktiven Pulvermischungen mit 5% der kristallinen LH 300 und der in der Kugelmühle komplett amorphisierten LH 300 sei auf Kapitel 7.2.2.2 verwiesen.

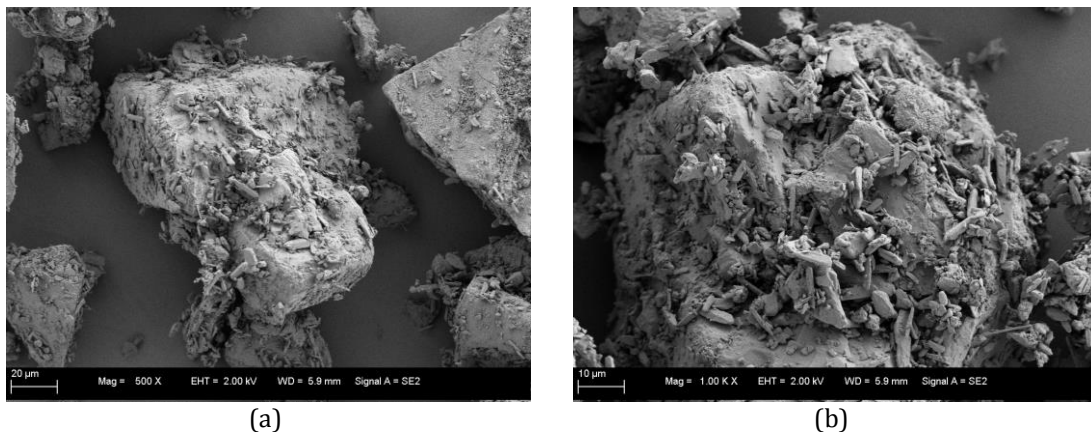
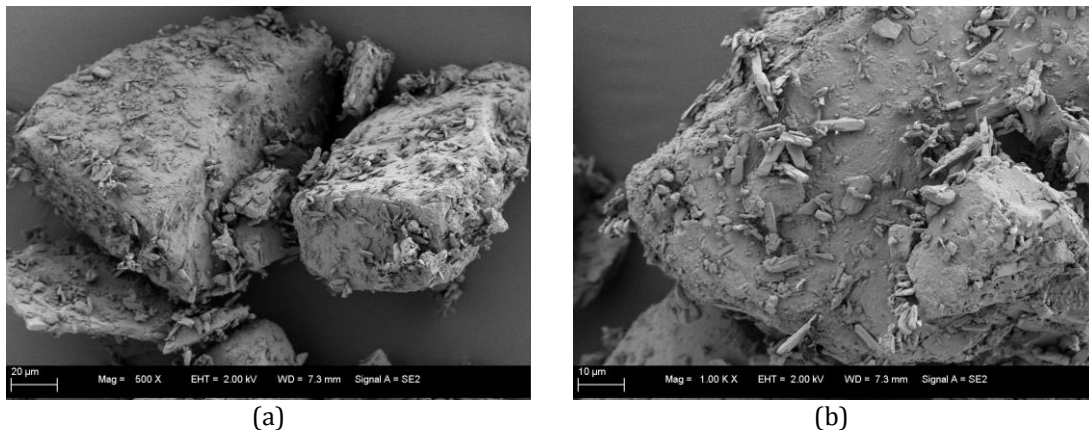


Abbildung 7.3-7: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% in der Kugelmühle teilmorphisierter LH 300 I und 2% SBS
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)



**Abbildung 7.3-8: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung mit 5% in der Kugelmühle teilamorphisiertem LH 300 II und 2% SBS
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 1000-fache Vergrößerung)**

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen für die beiden interaktiven Pulvermischungen mit der teilamorphisierten Laktose keinen deutlich erhöhten Feinanteil wie es für die Mischungen nach Zusatz der rein kristallinen LH 300 zu beobachten ist (Abbildung 7.2-9). Vielmehr gleichen die Aufnahmen denen der interaktiven Pulvermischung mit 5% der in der Kugelmühle vollständig amorphisierten LH 300.

7.3.4 Diskussion der Ergebnisse

Die Untersuchungen zum Einfluss des Zusatzes teilamorphisierter Laktose zum Träger zeigen trotz der vergleichbaren Partikelgrößenverteilung mit dem komplett amorphisierten LH 300 wesentlich höhere Feinpartikelfractionen, die denen nach Zusatz von 5% der kristallinen, mikronisierten LH 300 gleichen. Der Feinanteil in den Trägerlaktosen mit der teilamorphisierten LH 300 scheint also auszureichen, um das Deagglomerationsverhalten entscheidend zu verbessern. Der Feinanteil (Partikel kleiner 10 µm) in den teilamorphisierten Proben und der vollständig amorphisierten Laktose beträgt trotz der insgesamt zu höheren Werten verschobenen Partikelgrößenverteilung ca. 25%. Bezogen auf die Trägerlaktose mit 5% des gemahlenen Materials bedeutet dies, dass der zugesetzte Feinanteil an Laktose 1,25% beträgt. Ähnliche Beobachtungen, dass nicht ausschließlich Laktose in mikronisierter Form das Deagglomerationsverhalten verbessern kann, sind bei Zeng et al. (1999)

beschrieben. In deren Studie wurde der Zusatz von feiner Laktose ($x_{50} = 5 \mu\text{m}$) mit dem Zusatz von Laktose mittlerer Größe ($x_{50} = 15 \mu\text{m}$) zum Laktoseträger für salbutamolsulfathaltige Pulvermischungen untersucht. Auch die Laktose mittlerer Partikelgröße führte dort zu einer signifikanten Erhöhung der inhalierbaren Fraktion, die dort allerdings etwas unter der des Trägers mit der mikronisierten Laktose blieb. Dort wurden jedoch nur 1,5% der ternären Laktose zum Träger hinzugesetzt. Im Vergleich dazu wurde in dieser Arbeit mit den 5% zugesetzter gemahlener Laktose ein wesentlich höherer Anteil an feinen Laktosepartikeln eingebracht. In einer weiteren Studie von Zeng et al. (1998) konnte passend dazu gezeigt werden, dass mit zunehmender Konzentration der Laktose mit einem mittleren Durchmesser von $15 \mu\text{m}$, im Konzentrationsbereich von 1 bis 9%, die inhalierbare Fraktion weiter ansteigt. Es lässt sich also festhalten, dass auch der Zusatz der etwas gröberen gemahlener Laktose aus der Kugelmühle beziehungsweise dessen Feinanteil das Deagglomerationsverhalten der Pulver verbessern kann.

Der variierende amorphe Anteil der beiden Pulver übt hingegen keinen Einfluss auf das Deagglomerationsverhalten aus. Erst der Zusatz von vollständig amorpher Laktose führt zu einer Verringerung der Feinpartikelfraktion. Ein Grund hierfür wird sein, dass es bei der vollständig amorphisierten Laktose durch die Rekristallisation zu einer stärkeren Haftung zwischen Wirkstoff und amorpher Laktose kommt, was zu einer verschlechterten Deagglomeration des Pulvers führt. Bei den teilamorphisierten Pulvern sind zwei Erklärungen denkbar warum es dort nicht zu einer Verschlechterung des Deagglomerationsverhaltens kommt. Auf der einen Seite mag dieser Effekt überhaupt von der Höhe des amorphen, zur Rekristallisation befähigten Anteils abhängen, auf der anderen Seite ist bei den teilamorphisierten Pulvern neben der gemahlener, amorphen Laktose ein Teil der gemahlener Laktose noch im kristallinen Zustand. Der kristalline Anteil scheint dabei auszureichen, um die Feinpartikelfraktion entsprechend zu erhöhen. Diese beiden Effekte werden sich vermutlich auch ergänzen.

7.4 Statistischer Versuchsplan zum Einfluss des Arzneistoffgehaltes und des Gehaltes amorpher Laktose

7.4.1 Einleitung

In Kapitel 7.3 konnte gezeigt werden, dass der Zusatz von in der Kugelmühle teilamorphisiertem LH 300 mit unterschiedlichen amorphen Anteilen zu keiner Verschlechterung des Deagglomerationsverhaltens führt. Der Zusatz von 5% der vollständig amorphen LH 300 führte hingegen zu einer deutlichen Verschlechterung des Deagglomerationsverhaltens.

Dieses Kapitel soll nun aufzeigen, ob der Zusatz verschiedener Konzentrationen der vollständig amorphisierten Laktose das Deagglomerationsverhalten salbutamolsulfathaltiger Pulvermischungen unterschiedlich beeinflusst. Dabei sollte gleichzeitig der Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen des Wirkstoffes untersucht werden. Um bei möglichst geringer Versuchsanzahl dennoch eine statistisch sichere Aussage über die Einflüsse treffen zu können, wurde diese Untersuchung im Rahmen eines statistischen Versuchsplans durchgeführt.

Dazu wurde ein Mischungsversuchsplan mit 3 numerischen und einem kategorischen Faktor aufgestellt. Als die zu untersuchenden Einflussfaktoren wurde die Salbutamolsulfatkonzentration im Bereich von 0,4-4% und die Konzentration an amorpher Laktose im Bereich von 0,5-5% variiert. Daraus ergab sich für die kristalline Laktose ein Konzentrationsbereich von 91-99,1%. Um zusätzlich den Einfluss der beiden unterschiedlichen Lagerungsfeuchten zu untersuchen, wurde die Feuchte als kategorischer Faktor eingeführt und auf den zwei Stufen 45% und 75% relativer Feuchte variiert. Die Zielgröße der Versuche stellte wiederum die mit dem NGI bestimmte Feinpartikelfraktion dar. Jede Pulvermischung wurde dreifach vermessen.

Da es zeitlich nicht möglich war alle Versuche zu einem Zeitpunkt durchzuführen, konnte für die Untersuchungen nicht mit nur einer Charge gemahlener Laktose gearbeitet werden. Auf der einen Seite kann dies den Nachteil mit sich bringen, dass durch variable Eigenschaften der gemahlenden Laktose stärkere Schwankungen der Ergebnisse zu erwarten sind. Auf der anderen Seite bedeutet

dies aber, dass beim Auftreten signifikanter Unterschiede diese auch für unterschiedliche Chargen gemahlener Laktose gelten und zu reproduzieren sind, wodurch eine allgemein gültigere Aussage getroffen werden kann.

7.4.2 Ergebnisse

In der Auswertung fanden drei der 22 Runs des Versuchsplans keine Berücksichtigung, da im Nachhinein festgestellt wurde, dass der amorphe Anteil deutlich unter dem Sollwert lag. Auf eine Wiederholung dieser Punkte konnte verzichtet werden, da sich auch unter deren Ausschluss ein hinreichend signifikantes Modell ($p < 0,0001$) ergab. Der „Lack of Fit“ des vorliegenden Modells ist mit 0,43 nicht signifikant. Die „Adequate Precision“ gibt das Signal-Rausch-Verhältnis an und sollte über einem Wert von 4 liegen. Hier wurde ein Wert von 18 erhalten, was zeigt, dass die Ergebnisse klar von einem Rauschen zu unterscheiden sind. „Adjusted R^2 “ beschreibt wie gut das Modell die vorliegenden Daten beschreibt. Mit einem Wert von 0,9049 zeigt dieser eine gute Übereinstimmung des Modells mit den vorliegenden Daten. Im Vergleich dazu beschreibt „Predicted R^2 “ inwieweit das Modell darüber hinaus in der Lage ist auch neue Daten hinreichend genau vorherzusagen. „Predicted R^2 “ sollte hierbei um maximal 0,2 von „Adjusted R^2 “ abweichen. Dies ist für das vorliegende Modell mit einem „Predicted R^2 “ von 0,8393 gegeben.

Abbildung 7.4-1 zeigt die dreidimensionale Darstellung der Abhängigkeit der Feinpartikelfraktion von der Konzentration an Salbutamolsulfat und amorpher Laktose nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte.

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual
Factor Coding: Actual
FPF, %



X1 = A: SBS, %
X2 = B: amorphe Laktose, %
X3 = C: kristalline Laktose, %

Actual Factor
D: rel. Feuchte, % = 45

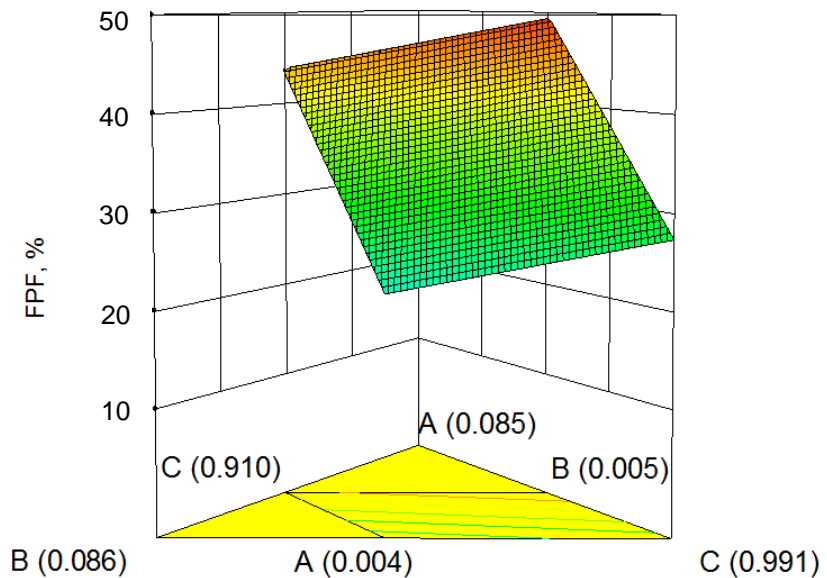


Abbildung 7.4-1: Feinpartikelfractionen in Abhängigkeit von der Konzentration an SBS und amorpher Laktose nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte

Den größten Einfluss auf die Feinpartikelfraktion zeigt die Variation der Wirkstoffkonzentration. Mit steigender Wirkstoffkonzentration kommt es zu einem deutlichen Anstieg in der Feinpartikelfraktion. Aber auch für die unterschiedlichen Konzentrationen an amorpher Laktose zeigt sich ein Einfluss auf die Feinpartikelfraktion. Dieser ist weniger stark ausgeprägt als der konzentrationsabhängige Effekt des Wirkstoffs. Eine steigende Konzentration an zugesetzter amorpher Laktose führt insgesamt zu einem Abfall in der Feinpartikelfraktion.

Abbildung 7.4-2 stellt die entsprechenden Ergebnisse nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte dar.

Design-Expert® Software
 Component Coding: Actual
 Factor Coding: Actual
 FPF, %



X1 = A: SBS, %
 X2 = B: amorphe Laktose, %
 X3 = C: kristalline Laktose, %

Actual Factor
 D: rel. Feuchte, % = 75

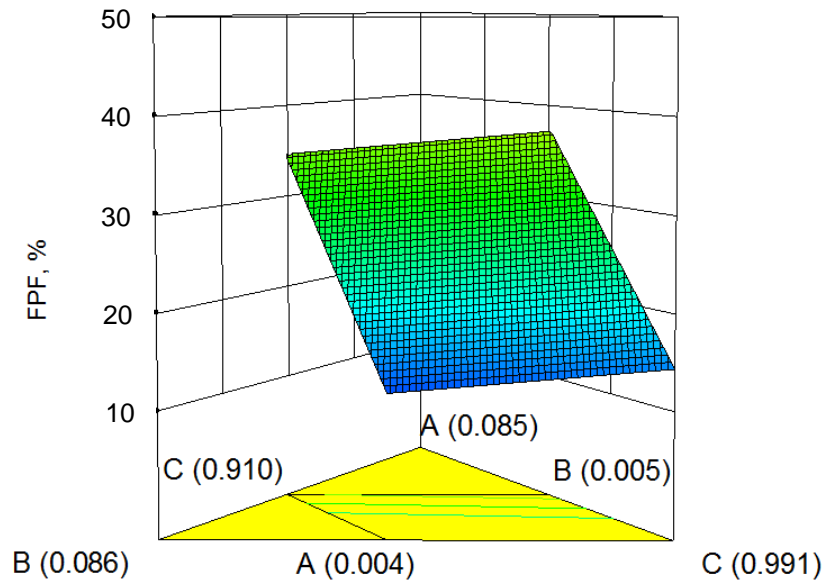


Abbildung 7.4-2: Feinpartikelfractionen in Abhängigkeit von der Konzentration an SBS und amorpher Laktose nach Lagerung bei 75% relativer Feuchte

Für die bei 75% relativer Feuchte gelagerten Pulvermischungen ergibt sich insgesamt eine wesentlich geringere Feinpartikelfraktion. Es ist hier weiterhin ein deutlicher Einfluss des Anteils an Salbutamolsulfat in der Pulvermischung auf die Feinpartikelfraktion zu erkennen. Der Einfluss des amorphen Anteils ist hingegen wesentlich geringer ausgeprägt als bei Lagerung bei 45% relativer Feuchte. Es kommt hier nur zu einer geringfügigen Abnahme der Feinpartikelfraktion mit steigendem amorphem Anteil.

7.4.3 Diskussion der Ergebnisse

Im Rahmen des durchgeführten statistischen Versuchsplanes konnte der schon in Kapitel 6 zu beobachtende Effekt, dass die Feinpartikelfraktion mit steigender Wirkstoffkonzentration ansteigt, unterstrichen werden. Wie dort schon diskutiert, steigt mit zunehmender Wirkstoffkonzentration der Anteil an Wirkstoff, der sich während der Inhalation leichter vom Träger ablösen lässt. Während bei geringerer Konzentration an Wirkstoff ein größerer Anteil der gesamten Wirkstoffdosis durch Anlagerung in Oberflächenkavitäten und an Bereiche höherer energetischer Dichte fester auf den Träger gebunden ist, steigt mit zunehmender Wirkstoffkonzentration der Anteil an leichter gebundenen oder in Agglomeraten vorliegenden Wirkstoffpartikeln.

Zudem hat sich gezeigt, dass es mit steigendem amorphen Anteil zu einer Verringerung der Feinpartikelfraktion kommen kann. Durch das rekristallisationsbedingte Verschmelzen der amorphen Laktose kommt es zur Ausbildung von Feststoffbrücken und in der Folge zu einer Erniedrigung der Feinpartikelfraktion.

Neben dem festen Einschluss des Wirkstoffes durch die Ausbildung von Feststoffbrücken, können auch die im Allgemeinen höheren Oberflächenenergien amorpher Materialien zu einer verringerten Feinpartikelfraktion führen. Im amorphen Zustand ist die Laktose thermodynamisch instabil und befindet sich somit in einem höheren energetischen Zustand, woraus eine höhere Oberflächenenergie als im kristallinen Zustand resultiert. Die höhere Oberflächenenergie von amorphen im Vergleich zu kristallinen Materialien ist in der Literatur vielfach beschrieben und kann mit Hilfe unterschiedlicher Methoden gemessen werden. Zhang et al. (2006) haben einen deutlichen Unterschied in den Oberflächenenergien kristalliner und sprühgetrockneter, amorpher Laktose mit Hilfe von AFM-Messungen zeigen können. Auch mittels inverser Gaschromatographie können Unterschiede in der Oberflächenenergie zwischen kristalliner und amorpher Laktose dargestellt werden. In einer Studie von Newell et al. (2001) konnten diese Unterschiede zwischen kristalliner und

sprühgetrockneter Laktose detektieren. Eine dort zusätzlich untersuchte gemahlene Laktose, die einen amorphen Anteil von nur 1% aufwies, zeigte allerdings die mit Abstand höchste Oberflächenenergie. Dies begründen die Autoren darüber, dass durch die Mahlung die Oberfläche der Laktose amorphisiert wurde, das Innere der Laktose hingegen kristallin blieb. Die gemahlene Laktose stellt sich deshalb bei Messung der Oberflächenenergie als komplett amorph dar. Die durch amorphe Anteile erhöhte Oberflächenenergie kann zu einer stärkeren Bindung zwischen dem Wirkstoff und den amorphen Bereichen führen und in der Folge die Deagglomeration von Pulvern erschweren. Durch Rekristallisation der amorphen Bereiche sollten diese erhöhten Energien allerdings abgebaut werden. Da das Deagglomerationsverhalten der Pulver in dieser Arbeit stets nach Rekristallisation der amorphen Anteile in der Laktose analysiert wurde, werden die unterschiedlichen Oberflächenenergien von kristalliner und amorpher Laktose weitestgehend ohne Einfluss sein. Die Verschlechterung der Deagglomeration durch gebildete Feststoffbrücken wird nach der Rekristallisation der amorphen Bereiche im Vordergrund stehen.

Dass sich dieser Effekt nach Lagerung bei 45% relativer Feuchte deutlicher dargestellt hat als nach der Lagerung bei 75% relativer Feuchte, kann mit der generell hohen Feuchteempfindlichkeit der hydrophilen Pulver zusammenhängen. Zur Rekristallisation der amorphen Anteile kommt es sowohl bei 45% als auch bei 75% relativer Feuchte. Bei 75% relativer Feuchte kommt es durch den hohen Einfluss von Kapillarkräften unabhängig vom amorphen Anteil ohnehin schon zu einem schlechteren Deagglomerationsverhalten und insgesamt sehr niedrigen Feinpartikelfractionen. Daher scheint in diesem Fall der Einfluss der Kapillarkräfte den Einfluss der Rekristallisation des amorphen Anteils zu überdecken und damit zu einem nicht so großen Einfluss kommen zu lassen.

Hätte der amorphe Anteil keinen negativen Einfluss auf das Deagglomerationsverhalten, wäre aus den vorangegangenen Untersuchungen zu erwarten gewesen, dass mit steigendem Zusatz des amorphen Materials, bedingt durch eine Erhöhung des Feinanteils, die Feinpartikelfraktion ansteigen würde.

7.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass der Zusatz mikronisierter Laktose in kristalliner Form, wie erwartet, zu einer Verbesserung des Deagglomerationsverhaltens und einer damit verbundenen Erhöhung der Feinpartikelfraktion führt. Wurde die mikronisierte Laktose jedoch amorphisiert, kommt es bei der sich anschließenden Rekristallisation zu einem Verschmelzen der mikronisierten Laktosepartikel auf der Oberfläche der groben Trägerlaktose. In Anwesenheit des Wirkstoffes werden auch zwischen diesem und der amorphen Laktose Feststoffbrücken ausgebildet, wodurch es zu einer starken Verringerung der Feinpartikelfraktion kommt.

Auch für die in der Kugelmühle amorphisierte Laktose konnte eine Verringerung der Feinpartikelfraktion beobachtet werden. Dass dies nicht allein mit dem prozessbedingten geringeren Feinanteil zu tun hat, konnte durch die beiden Träger mit dem Zusatz von in der Kugelmühle teilamorphisierter LH 300 gezeigt werden, für die wesentlich höhere Feinpartikelfractionen erhalten wurden. Anhand dieser beiden Pulvermischungen zeigte sich zudem, dass auch ein geringerer Feinanteil in der Laktose ausreichend ist, um die Feinpartikelfraktion entsprechend dem Zusatz der kristallinen, mikronisierten LH 300 zu verbessern. Hierbei hatten die geringen amorphen Anteile keinen die Deagglomeration verschlechternden Einfluss, da genug kristalliner Feinanteil im Träger enthalten war.

Es kam für die in der Kugelmühle amorphisierte Laktose zwar zu einem Abfall in der Feinpartikelfraktion im Vergleich dazu, wenn dem Träger 5% kristalline, mikronisierte Laktose zugesetzt wurde. Die Feinpartikelfraktion fiel aber nicht unter die der Pulvermischung mit dem rein kristallinen Inhalac 230 als Träger, was sich mit den Ergebnissen der Stabilitätsstudien aus Kapitel 6 deckt.

Im Rahmen des statistischen Versuchsplanes konnte dann gezeigt werden, dass mit steigendem Zusatz der kugelmahlenen, amorphen LH 300 die Feinpartikelfraktion sinkt, was abschließend demonstrierte, dass auch amorphe Laktose, die

nicht ausschließlich von mikronisierter Natur ist, zu einer verschlechterten Deagglomeration führen kann.

Es kann also der Schluss gezogen werden, dass der Zusatz amorpher Anteile zur Trägerlaktose das Deagglomerationsverhalten von Inhalationspulvern entscheidend verschlechtern kann, dabei aber immer ein Zusammenspiel von unterschiedlichsten Faktoren beachtet werden muss, die neben dem amorphen Anteil zusätzlich Einfluss nehmen. So bedingt das Einbringen amorpher Anteile in Pulver meist eine Veränderung weiterer Faktoren wie der Partikelgröße, der Oberflächenenergie und Oberflächenstruktur.

8 Einfluss eines veränderten Kristallisationsprozesses auf Inhalationslaktose

8.1 Einleitung

Das folgende Kapitel beschäftigt sich mit den Auswirkungen eines veränderten Kristallisationsprozesses für Inhalationslaktose. Die aus einer veränderten Animpfmenge während der Kristallisation resultierenden Unterschiede in den physiko-chemischen Eigenschaften der Laktose wurden untersucht und aufgezeigt. Aus den unterschiedlichen Laktosequalitäten hergestellte interaktive Pulvermischungen dienten dazu den Einfluss der Veränderungen im Träger auf das Deagglomerationsverhalten von Inhalationspulvern zu untersuchen. Da hierbei zusätzlich der Einfluss eines hydrophoben und eines hydrophilen Wirkstoffes untersucht werden sollte, wurden mit jeder Trägerlaktose interaktive Pulvermischungen, entweder mit 2% Budesonid und oder mit 2% Salbutamol-sulfat, hergestellt und analysiert.

Bekannt war, dass der veränderte Kristallisationsprozess der Laktose unter anderem in einer Verringerung des Feinanteils der Laktose resultiert. Deshalb kam ein weiterer Träger zum Einsatz, für dessen Herstellung Die Laktose aus dem veränderten Kristallisationprozess mit 5% mikronisierte Laktose versetzt wurde. Dadurch gelang die Anpassung des Feinanteils an Laktose aus dem alten Kristallisationsprozess. Auf diese Weise sollte untersucht werden, ob eventuell vorhandene Unterschiede in der inhalierbaren Fraktion auf die alleinige Reduzierung des Feinanteils der Laktose zurückzuführen sind.

8.2 Charakterisierung der Laktoseträger

Es wurden folgenden drei Trägerlaktosen untersucht:

Träger 1: Laktose aus dem alten Kristallisationsprozess

Träger 2: Laktose aus dem veränderten Kristallisationsprozess
+ 5% mikronisierte Laktose

Träger 3: Laktose aus dem veränderten Kristallisationsprozess

8.2.1 Partikelgrößenverteilung

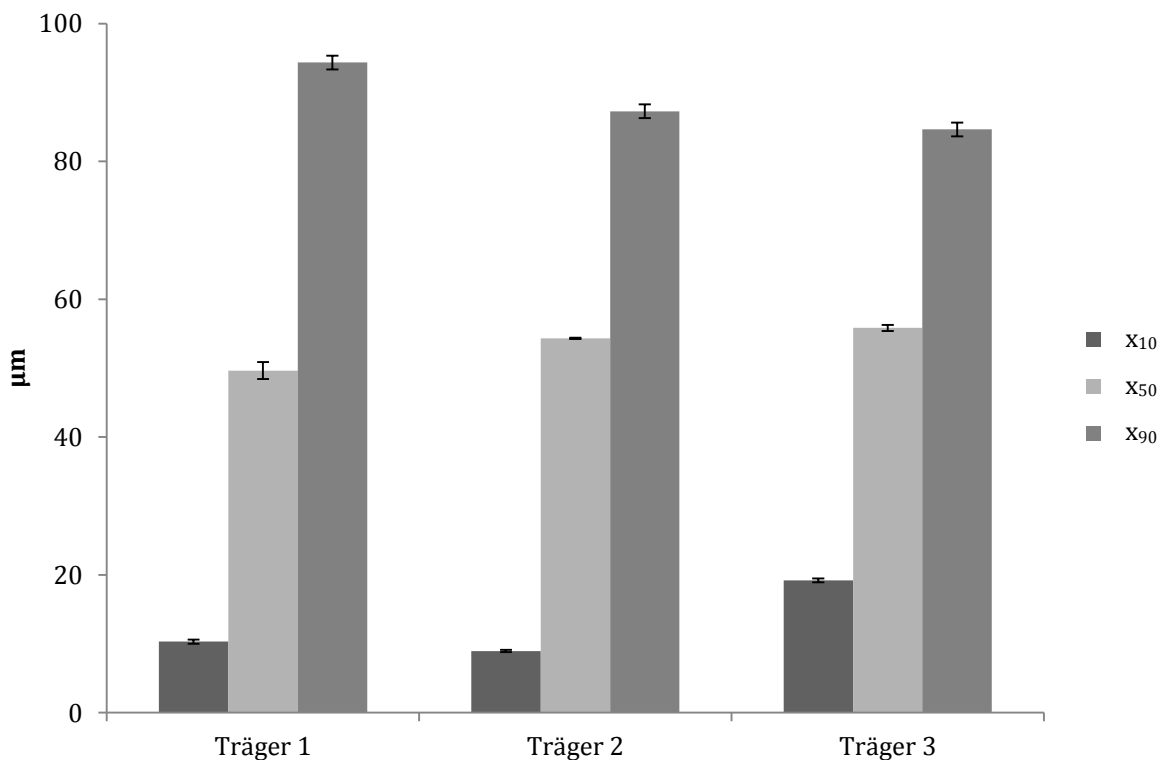


Abbildung 8.2-1: Kenngrößen der Partikelgrößen der drei Trägerlaktosen

Der Vergleich von Träger 1 und Träger 3, den beiden Laktosequalitäten aus den unterschiedlichen Kristallisationsprozessen, zeigt den prozessbedingten verringerten Feinanteil für Träger 3 (Abbildung 8.2-1). Des Weiteren zeigt sich für diese Laktose eine insgesamt engere Partikelgrößenverteilung. Der x_{10} -Wert liegt deutlich höher und der Wert für den x_{90} deutlich niedriger als für die Laktose aus dem alten Kristallisationsprozess.

Durch den Zusatz von 5% der mikronisierten Laktose zeigt sich für Träger 2 vor allem im x_{10} -Wert eine Angleichung an Träger 1.

8.2.2 Sorptionsisothermen und amorphe Anteile

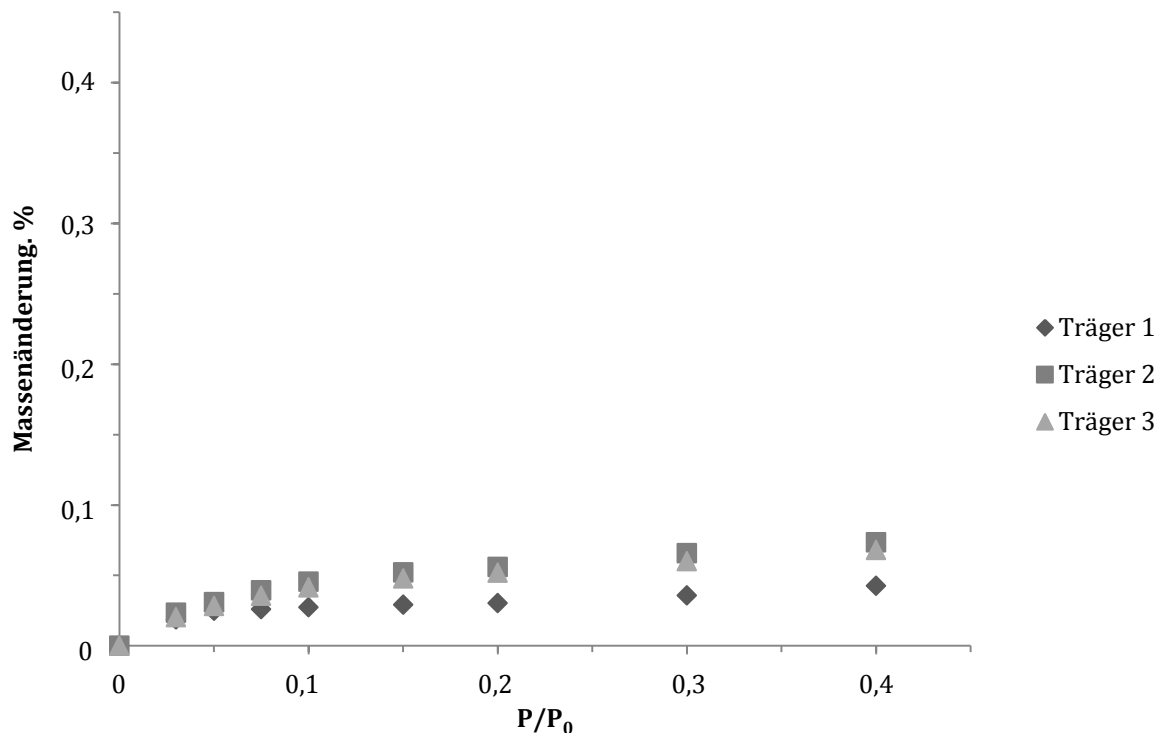


Abbildung 8.2-2: Sorptionsisothermen der drei Trägerlaktosen

Die Sorptionsisothermen (Abbildung 8.2-2) zeigen, dass das Wasseraufnahmevermögen für Träger 1, die Laktose aus dem alten Kristallisationsprozess, im Vergleich etwas niedriger liegt als für den neuen Kristallisationsprozess. Dies spiegelt sich auch in den unterschiedlichen kalkulierten amorphen Anteilen von $0,3 \pm 0,0\%$ für Träger 1 und $0,8 \pm 0,1\%$ für Träger 3 wider. Den höchsten amorphen Anteil weist die reine mikronisierte Laktose mit $4,6 \pm 0,3\%$ auf. Dieser wesentlich höhere amorphe Anteil lässt sich mit den unterschiedlichen Herstellungsprozessen begründen. Während es sich bei den beiden groben Laktoseträgern um gesiebte Laktosequalitäten handelt, wird die mikronisierte Laktose zur Zerkleinerung gemahlen. Da bei der Mahlung wesentlich höhere

Kräfte wirken, resultiert für die mikronisierte Laktose ein höherer amorpher Anteil als für die lediglich gesiebte Laktose. Durch Zusatz der mikronisierten Laktose ändert sich der amorphe Anteil nur geringfügig auf $0,9 \pm 0,1\%$, da lediglich 5% der mikronisierten Laktose zugesetzt wurden.

8.2.3 Anomeres Verhältnis

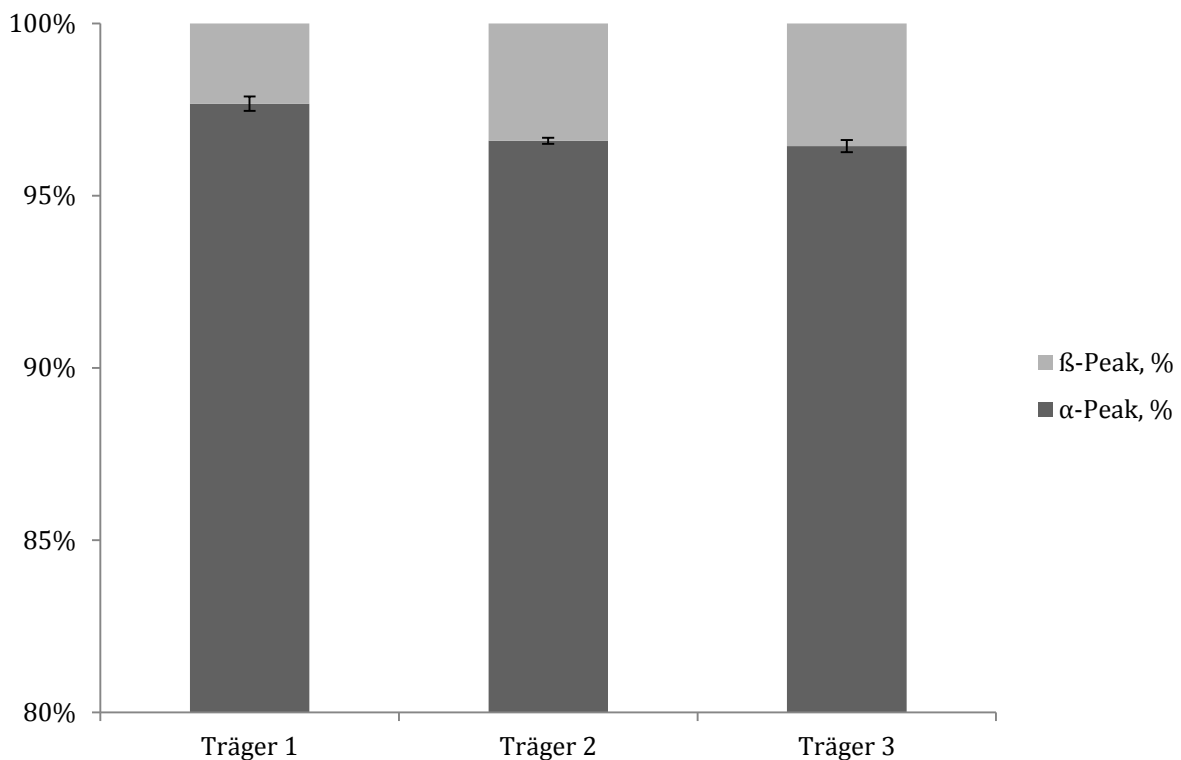


Abbildung 8.2-3: Anomeres Verhältnis der drei Trägerlaktosen

Die Untersuchung des anomeren Verhältnisses der drei unterschiedlichen Träger zeigt, dass der neue Kristallisationsprozess zu einem erhöhten β -Anteil in der Laktose führt (Abbildung 8.2-3). Während der neue Kristallisationsprozess in einem β -Anteil von $3,6 \pm 0,2\%$ resultiert, ergibt sich für den alten Kristallisationsprozess ein β -Anteil von lediglich $2,3 \pm 0,2\%$. Das anomere Verhältnis von Träger 2 und Träger 3 unterscheidet sich nicht, da der geringe Anteil von 5% mikronisierter Laktose keinen Einfluss auf das anomere Verhältnis von Träger 2 zeigt.

8.2.4 Schütt- und Stampfdichte

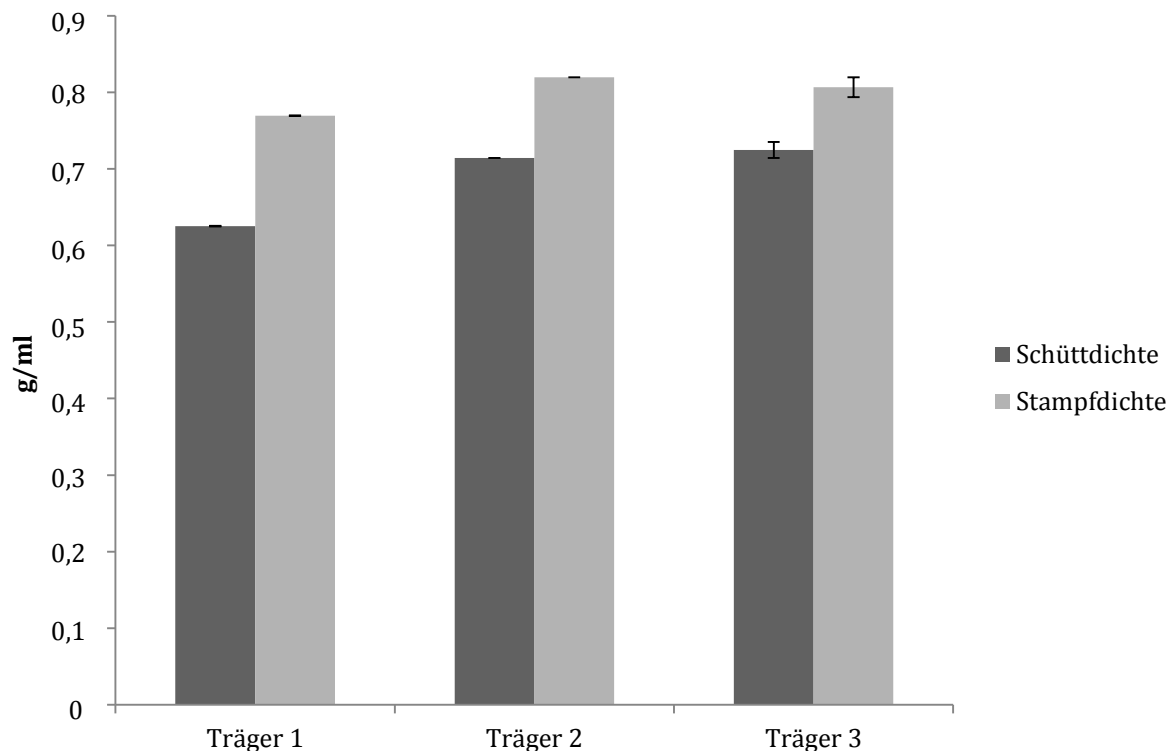


Abbildung 8.2-4: Schütt- und Stampfdichte der drei Trägerlaktosen

In Abbildung 8.2-4 ist die Schütt- und Stampfdichte der Träger dargestellt. Es kann ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden unterschiedlichen Kristallisationsprozessen gezeigt werden. Sowohl die Schütt- als auch die Stampfdichte ist für Träger 1, die Laktose aus dem alten Kristallisationsprozess niedriger als für Träger 3. Trotz des höheren Feinanteils in Träger 1 ergibt sich für diesen eine geringere Schütt- und Stampfdichte. Für Träger 2 ergeben sich nach Zusatz der mikronisierten Laktose die gleichen Werte wie für Träger 3. Dies zeigt, dass der 5%-ige Zusatz von mikronisierter Laktose das Schütt- und Stampfvolumen nicht beeinflusst. Die niedrigen Werte für Träger 1 sind auf die breitere Partikelgrößenverteilung und die damit vorhandenen gröberen Partikel zurückzuführen, die zu vermehrten Lufteinschlüssen im Pulver führen.

8.2.5 Pulverrheologie

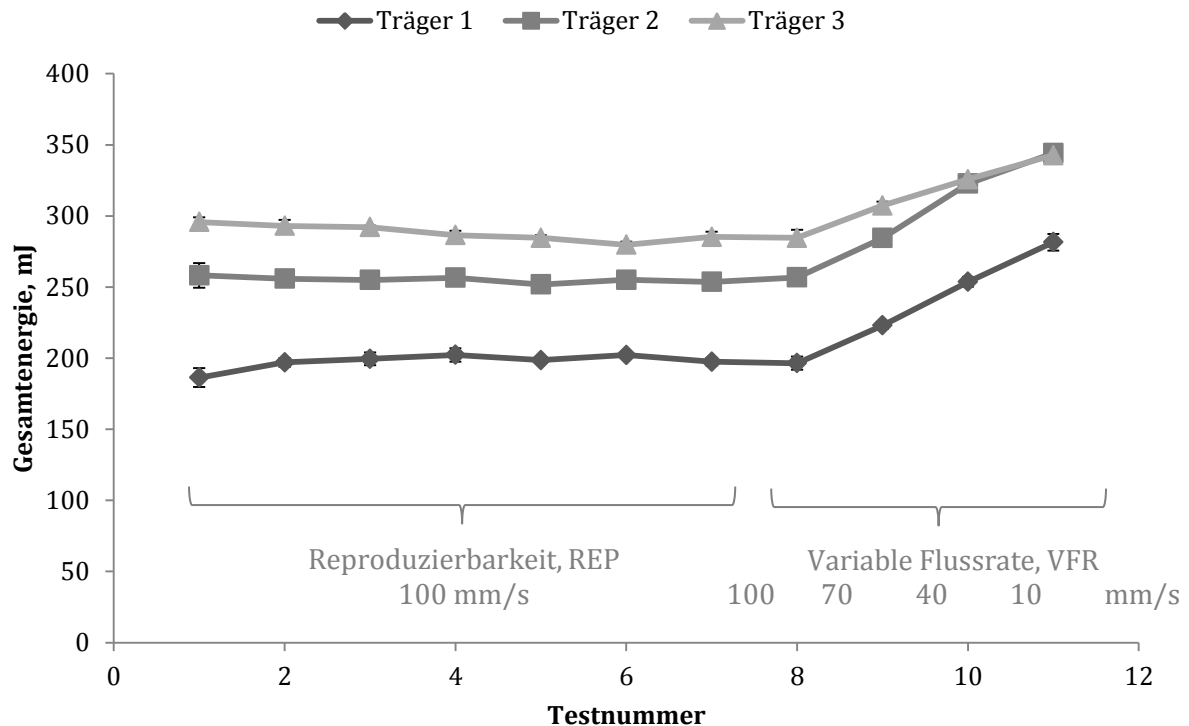


Abbildung 8.2-5: „Basic Flowability Energy“ der drei Laktoseträger

Material	BFE, mJ	SI	SE, mJ/g	CBD, g/ml
Träger 1	197 (±3)	1.060 (±0.033)	4.88 (±0.11)	0.608 (±0.002)
Träger 2	254 (±2)	0.983 (±0.025)	4.82 (±0.06)	0.663 (±0.004)
Träger 3	285 (±4)	0.965 (±0.018)	3.80 (±0.06)	0.676 (±0.003)

Tabelle 8.2-1: Ergebnisse der dynamischen, pulverrheologischen Messungen der drei Laktoseträger

Die pulverrheologischen Messungen der drei Träger zeigen deutliche Unterschiede in deren Fließfähigkeiten. Der waagerechte Verlauf der drei Kurven bei konstanter Schergeschwindigkeit und der nahe an 1 liegende Stabilitätsindex (SI) zeigen die stabilen rheologischen Eigenschaften aller drei Träger.

Die unterschiedliche Höhe der Kurven von Träger 2 und Träger 3 lässt sich über den unterschiedlich hohen Feinanteil in den Trägern erklären. Mit Erhöhung des Anteils feiner Partikel in der Laktose, kommt es zu einer Erhöhung der kohäsiven Kräfte (Shur et al., 2008). In der Folge sinkt die „basic flowability energy“ (BFE), bedingt durch eine vermehrte Tendenz zur Agglomeratbildung. Bei geringerem

Feinanteil reiben benachbarte Partikel während der Abwärtsbewegung des Blattes stärker aneinander, wodurch das Blatt mehr Kraft aufbringen muss, um durch das Pulver zu gelangen. Mit steigendem Anteil an Agglomeraten kommt es vermehrt zu Lufteinschlüssen im Pulver, weshalb niedrigere Werte für die BFE erhalten werden (Freeman, 2007). Im direkten Vergleich der Träger 2 und 3 zeigt sich für Träger 2 mit dem höheren Feinanteil mit 254 ± 4 mJ ein deutlich niedrigerer Wert für die BFE als für Träger 3, für den die BFE bei 285 ± 4 mJ liegt. Allerdings sinkt die BFE durch Zusatz der mikronisierten Laktose nicht bis auf das Niveau von Träger 1. Auch die „conditioned bulk density“ (CBD) sinkt mit erhöhtem Feinanteil der Laktose. Die höchste CBD wird für Träger 3 aufgrund des fehlenden Feinanteils im Pulver erhalten. Die im Vergleich von Träger 1 und Träger 2 wesentlich niedrigere CBD für Träger 1 zeigt aber, dass nicht allein die Höhe des Feinanteils für die niedrigen Energiewerte von Träger 1 verantwortlich sind. Der erhöhte Lufteinschluss ist bei Träger 1 anderer Ursache. Der intrinsische Feinanteil kann fester auf der Oberfläche gebunden zu sein, als der zugesetzte Feinanteil von Träger 2. Durch eine festere Bindung des Feinanteils auf der Oberfläche der Laktose und die insgesamt breitere Partikelgrößenverteilung können sich die einzelnen Partikel nicht so eng packen und es kommt vermehrt zu Lufteinschlüssen im Pulver, die zu den niedrigen Energiewerten führen.

Dieses generelle Verhalten spiegelt sich auch in den Werten für die „specific energy“ (SE) wieder. Die SE gibt Auskunft darüber wieviel Energie das Blatt während der Aufwärtsbewegung durch das Pulver benötigt. Die SE ist für Träger 1 und 2 im Vergleich zu Träger 3 erhöht, was wiederum den erhöhten Lufteinschluss im Pulver der beiden Träger mit dem größeren Anteil an feiner Laktose unterstreicht.

Abbildung 8.2-6 zeigt die Ergebnisse des Aeration Tests der drei Träger.

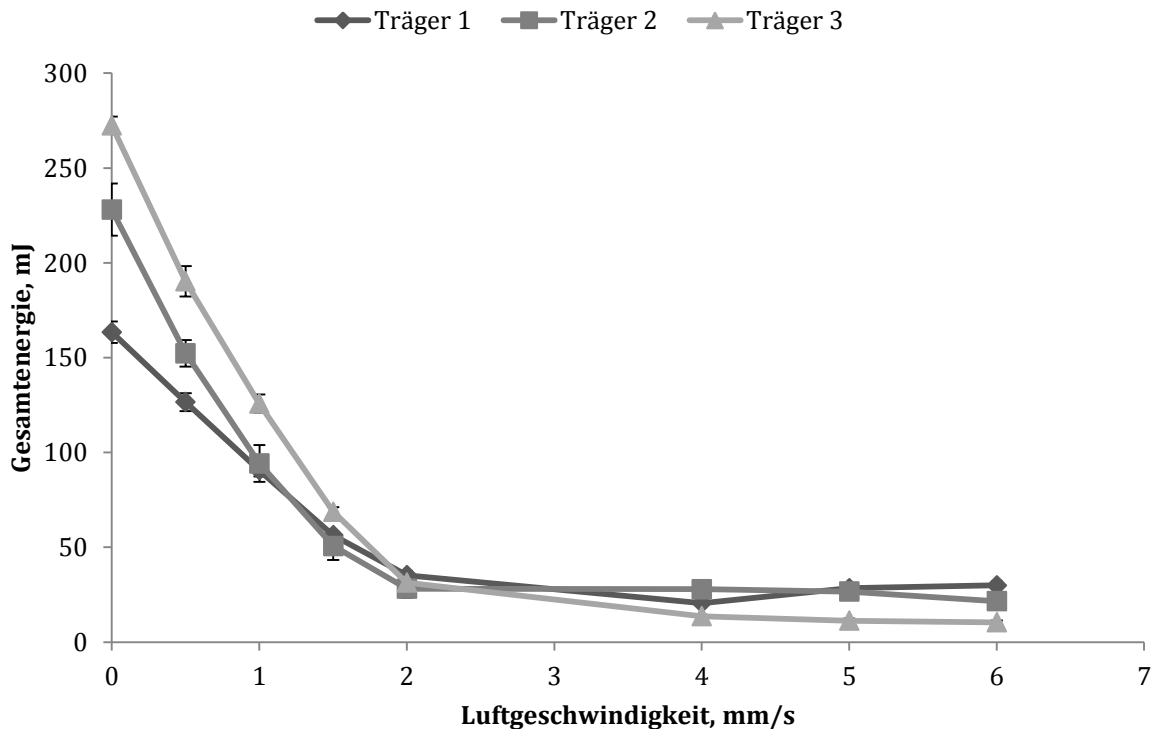
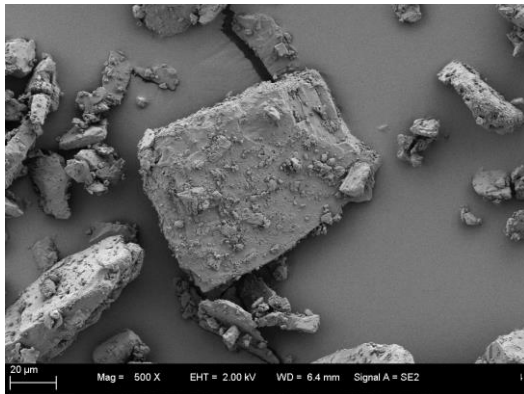


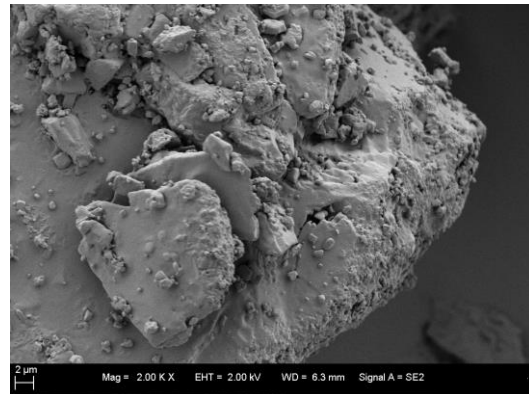
Abbildung 8.2-6: „Aeration Test“ der drei Trägerlaktosen

Die Betrachtung der benötigten Energie in Abhängigkeit von der eingesetzten Luftgeschwindigkeit spricht generell für ein ähnliches Fluidisierungsverhalten der drei Träger. Bei niedrigen Luftgeschwindigkeiten zeigt sich ein weitestgehend ähnlicher Trend wie bei der vorhergehenden Untersuchung der Fließfähigkeiten. Die benötigte Energie liegt für Träger 3 höher als für Träger 2 mit den zugesetzten 5% mikronisierter Laktose. Die niedrigsten Energiewerte werden aufgrund der weniger engen Packung der einzelnen Partikel wiederum für Träger 1 erhalten. Bei einer Luftgeschwindigkeit von 6 mm/s zeigt sich eine vollständige Fluidisierung der drei Laktosen. Die höheren Energiewerte für Träger 2 im Vergleich zu Träger 3 zeigen allerdings wiederum den Einfluss des erhöhten Feinanteils. Nicht alle Partikel sind als Einzelpartikel, sondern zum Teil auch als ganze Agglomerate fluidisiert. Es resultiert ein erhöhter Energiebedarf des Blattes, da es die interpartikulären Kräfte innerhalb dieser fluidisierten Agglomerate zum Teil überwinden muss (Cordts und Steckel, 2012).

8.2.6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

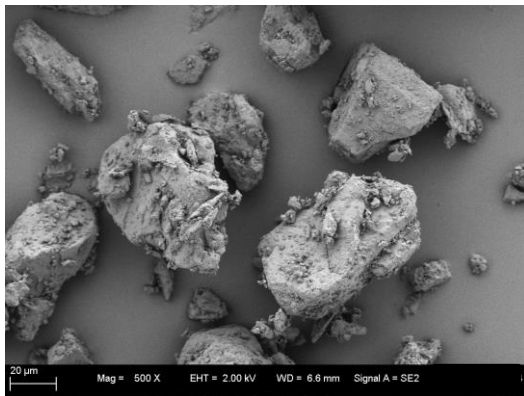


(a)

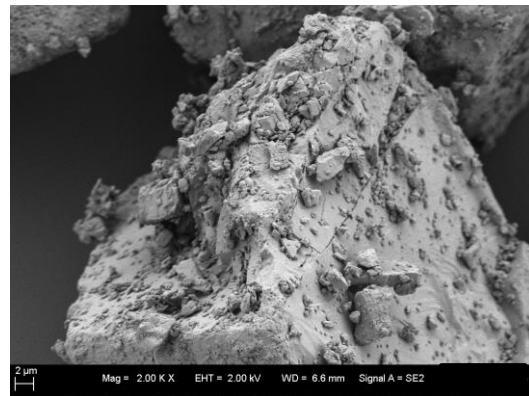


(b)

**Abbildung 8.2-7: REM-Aufnahmen von Träger 1
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 2000-fache Vergrößerung)**

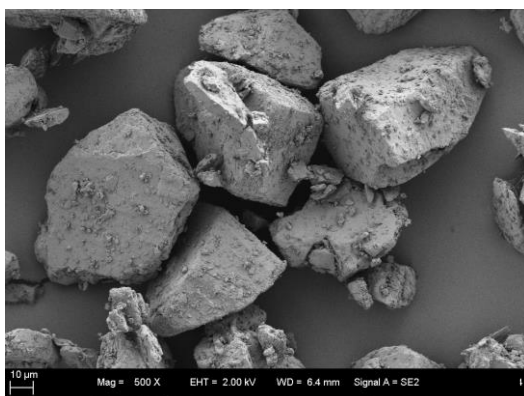


(a)

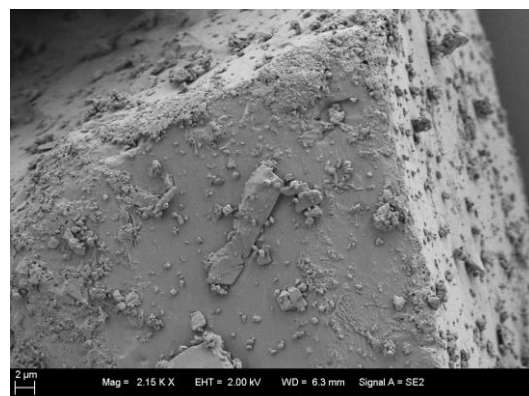


(b)

**Abbildung 8.2-8: REM-Aufnahmen von Träger 2
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 2000-fache Vergrößerung)**



(a)



(b)

**Abbildung 8.2-9: REM-Aufnahmen von Träger 3
(a: 500-fache Vergrößerung, b: 2150-fache Vergrößerung)**

Im direkten Vergleich von Träger 2 und 3 ist der durch Zusatz der mikronisierten Laktose hervorgerufene erhöhte Feinanteil auf der groben Trägerlaktose zu erkennen (Abbildungen 8.2-8 und 8.2-9). Träger 1 zeigt ebenfalls den durch den alten Kristallisationsprozess bedingten höheren Feinanteil in der Laktose (Abbildung 8.2-7).

8.3 Interaktive Pulvermischungen mit Budesonid

8.3.1 Aerodynamische Charakterisierung

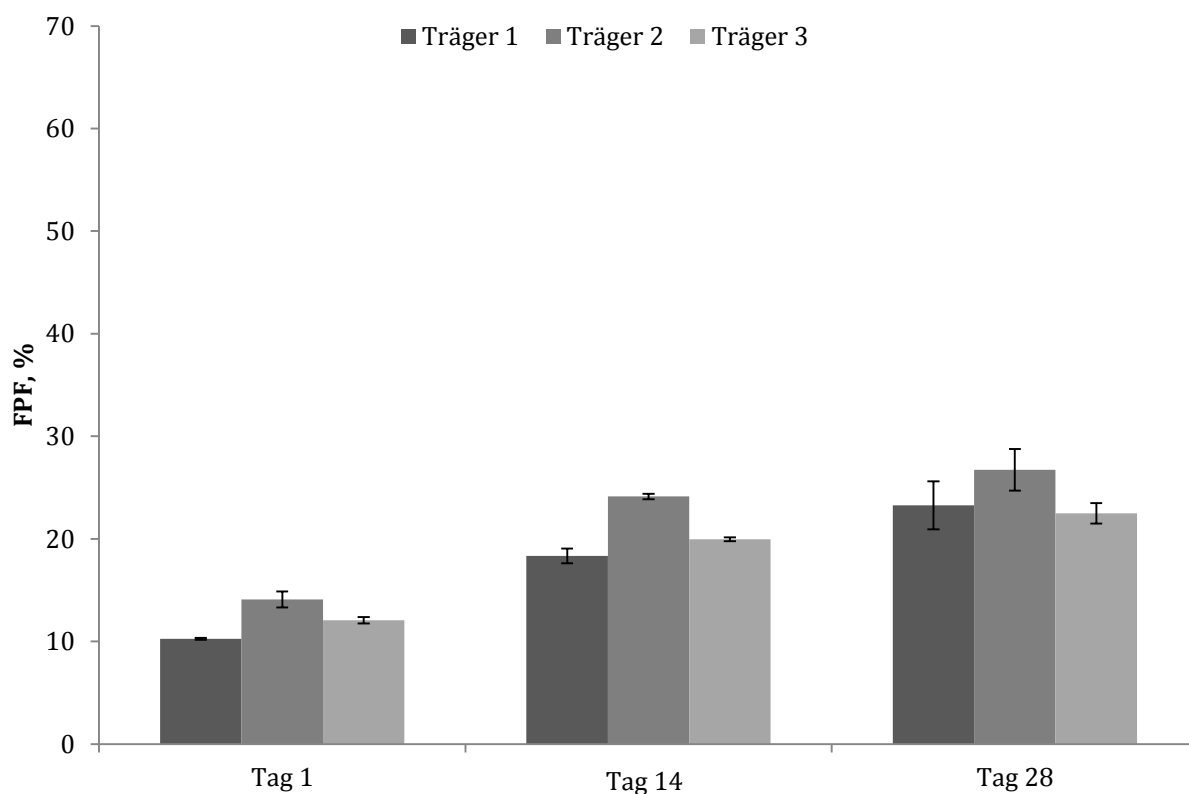


Abbildung 8.3-1: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Budesonid nach Lagerung bei 45% rF

Die Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen der drei Laktoseträger mit 2% Budesonid wurden nach 1, 14 und 28 Tagen Lagerung bei 45% relativer Feuchte ermittelt. Es zeigt sich am ersten Tag für alle drei Pulvermischungen mit Werten zwischen 10 und 14% eine sehr geringe

Feinpartikelfraktion. Mit zunehmender Lagerungsdauer kommt es zu einer stetigen Zunahme der Feinpartikelfraktion.

Bei Betrachtung der Unterschiede in der Feinpartikelfraktion in Abhängigkeit vom verwendeten Laktoseträger ergibt sich zu allen drei Untersuchungszeitpunkten die höchste Feinpartikelfraktion für Träger 2, die Laktose aus dem neuen Kristallisationsprozess unter Zusatz von 5% der mikronisierten Laktose. Dieser Unterschied ist allerdings aufgrund der sehr niedrigen Feinpartikelfractionen an Tag 1 und der hohen Standardabweichungen an Tag 28 nur an Tag 14 signifikant ($P \leq 0,001$).

Abbildung 8.3-2 zeigt die Depositionsprofile der drei interaktiven Pulvermischungen nach eintägiger Lagerung bei 45% relativer Feuchte.

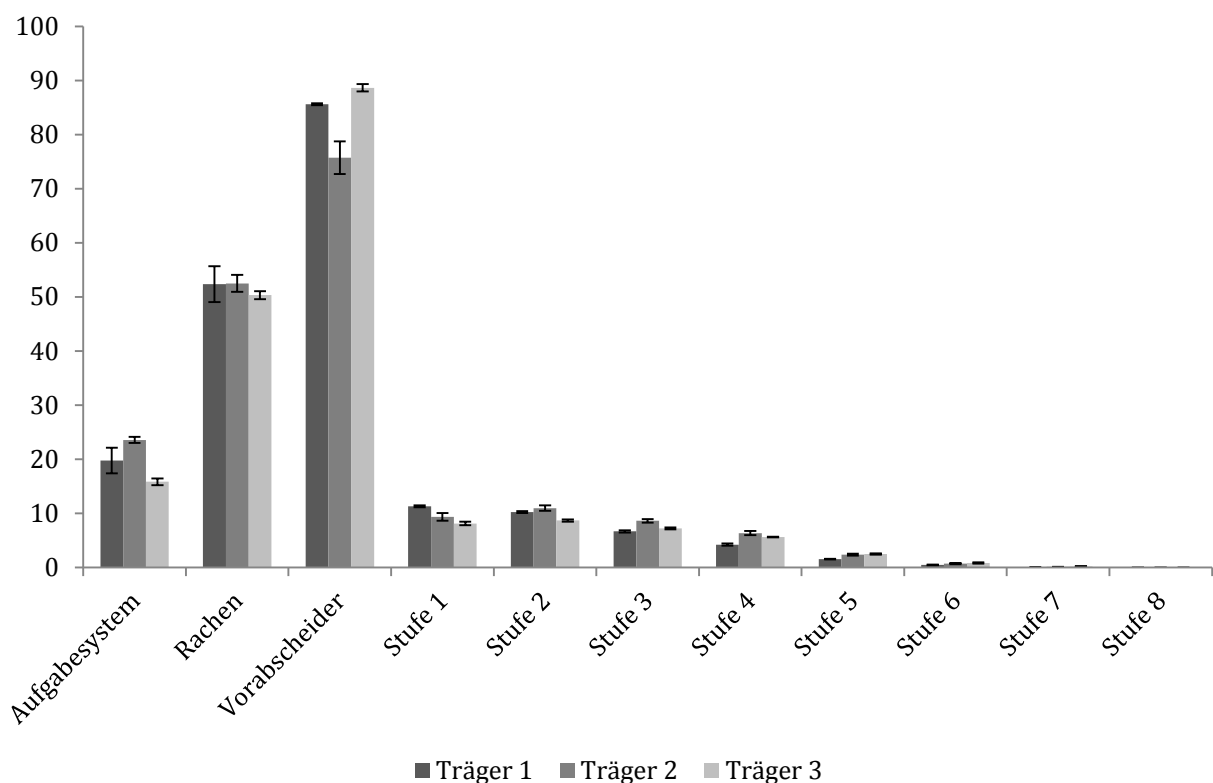


Abbildung 8.3-2: Depositionsprofile der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Budesonid nach 24 h Lagerung bei 45% rF

In Übereinstimmung mit den geringen Feinpartikelfractionen zeigt sich für alle Pulver eine hohe Abscheidung im Rachen und im Vorabscheider. Dadurch gelangt nur wenig Wirkstoff auf die folgenden Stufen, woraus eine geringe lungengängige

Fraktion resultiert. Auch hier zeigt sich, mit der etwas geringeren Abscheidung von Wirkstoff im Vorabscheider für Träger 2, der Trend einer verbesserten Deagglomeration nach Zusatz von 5% der mikronisierten Laktose.

Insgesamt decken sich die Ergebnisse mit denen aus Kapitel 6.3.1. Dort wurde ebenfalls für die budesonidhaltigen interaktiven Pulvermischungen eine Zunahme in der Feinpartikelfraktion mit der Lagerungszeit beobachtet. Zu begründen ist dies über durch das Mischen eingebrachte elektrostatische Kräfte, die aufgrund des hydrophoben Charakters des Budesonids erst mit der Zeit abgebaut werden. Dies führt zu der allmählichen Steigerung der Feinpartikelfraktion über die Zeit.

Erwartungsgemäß ist die Feinpartikelfraktion von Träger 2 im Vergleich zu Träger 3 nach Zusatz der mikronisierten Laktose erhöht. Wie in Kapitel 6.5 diskutiert, können Bereiche hoher energetischer Dichte und Oberflächenkavitäten auf der Trägerlaktose durch die mikronisierte Laktose belegt werden, so dass das Budesonid anschließend bevorzugt an Bereiche niedrigerer energetischer Dichte gebunden wird. In der Folge kann es leichter durch den Luftstrom von der Trägerlaktose gelöst werden. Auf der anderen Seite kann es zur Ausbildung von Agglomeraten zwischen der mikronisierten Laktose und dem Wirkstoff kommen, die durch ihre erhöhte Masse und Größe leichter vom Träger gelöst und entweder weiter deagglomert werden oder in Form von kleineren Agglomeraten als Gesamtheit zur Feinpartikelfraktion zählen.

Auffällig ist, dass sich Träger 1 und 3 hinsichtlich der resultierenden Feinpartikelfraktionen der interaktiven Pulvermischungen nicht unterscheiden, obwohl Träger 1 einen ähnlich hohen Feinanteil wie Träger 2 aufweist. Hier scheint es also einen unterschiedlichen Einfluss des Feinanteils auf das Deagglomerationsverhalten der interaktiven Pulvermischungen in Abhängigkeit davon zu geben, ob der Feinanteil nachträglich zugesetzt wurde oder durch den Herstellungsprozess bedingt von vornherein in der Laktose vorhanden ist. Hierauf wird in Kapitel 8.4.1 näher eingegangen.

8.3.2 Pulverrheologie

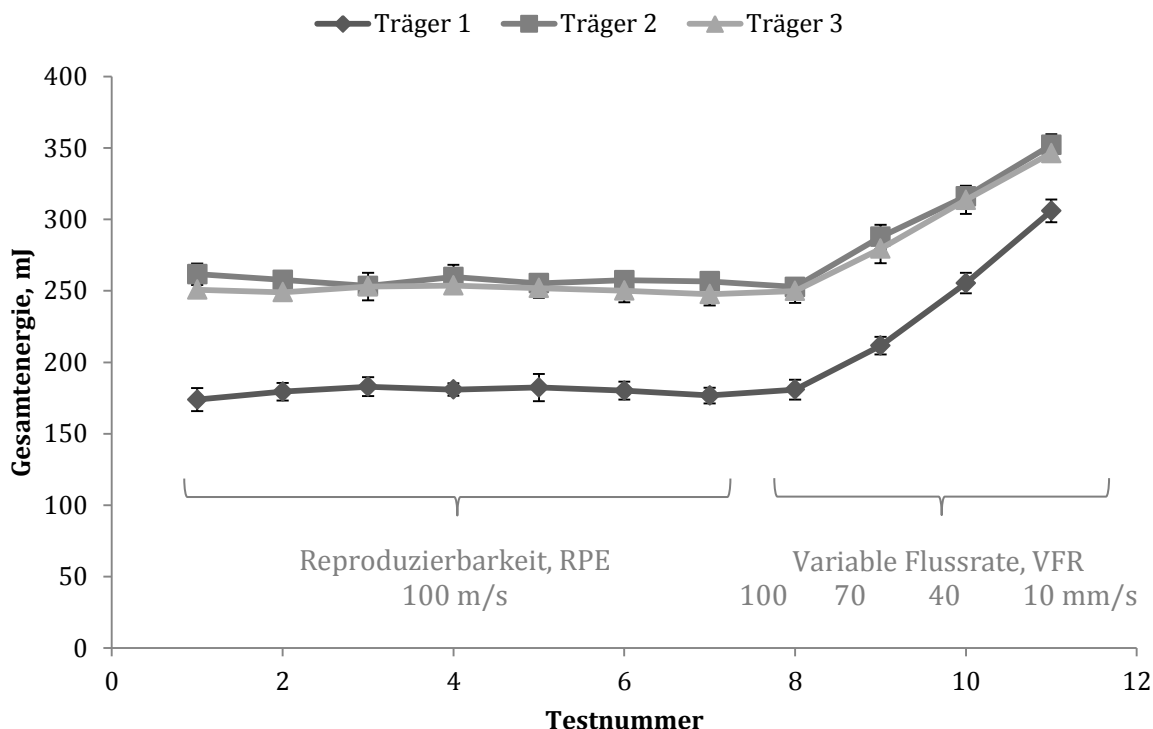


Abbildung 8.3-3: „Basic Flowability Energy“ der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Budesonid

Material	BFE, mJ	SI	SE, mJ/g	CBD, g/ml
Träger 1 + 2% Budesonid	177 (± 6)	1.020 (± 0.017)	4.95 (± 0.07)	0.622 (± 0.007)
Träger 2 + 2% Budesonid	257 (± 4)	0.981 (± 0.017)	4.40 (± 0.09)	0.667 (± 0.006)
Träger 3 + 2% Budesonid	248 (± 8)	0.987 (± 0.012)	4.34 (± 0.04)	0.657 (± 0.005)

Tabelle 8.3-1: Ergebnisse der dynamischen, pulverrheologischen Messungen der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Budesonid

Durch den Zusatz des Budesonids kommt es für Träger 3 zum stärksten Absinken der BFE im Vergleich zur reinen Trägerlaktose (Abbildung 8.2-5). Die mikronisierten Wirkstoffpartikel erhöhen den Feinanteil im Pulver und führen in der Folge zu erhöhten kohäsiven und adhäsiven Kräften und damit einhergehenden, steigenden Anzahl an Agglomeraten. Wie in Kapitel 8.2.5 beschrieben sinkt dadurch die Energie, die das Blatt benötigt, um sich durch das Pulver zu bewegen. Dass dieser Effekt für Träger 3 am ausgeprägtesten ist, liegt darin begründet, dass der reine Träger den geringsten Feinanteil enthält. Somit hat hier der zugesetzte mikronisierte Wirkstoff den größten Effekt. Auch für

Träger 1 kommt es zu einem Absinken der BFE von 197 ± 3 mJ auf 177 ± 6 mJ, während sie sich für Träger 2, mit 254 ± 3 mJ beziehungsweise 257 ± 4 mJ, unabhängig vom zugesetzten Budesonid zeigt. Dies führt dazu, dass sich nach Zusatz des Budesonids die Kurven von Träger 2 und Träger 3 gleichen. Es zeigt sich, dass Träger 1 auch nach Zusatz von 2% Budesonid die beste Fließfähigkeit aufweist.

Abbildung 8.3-4 zeigt die Ergebnisse des Aeration Tests für die budesonidhaltigen Pulver.

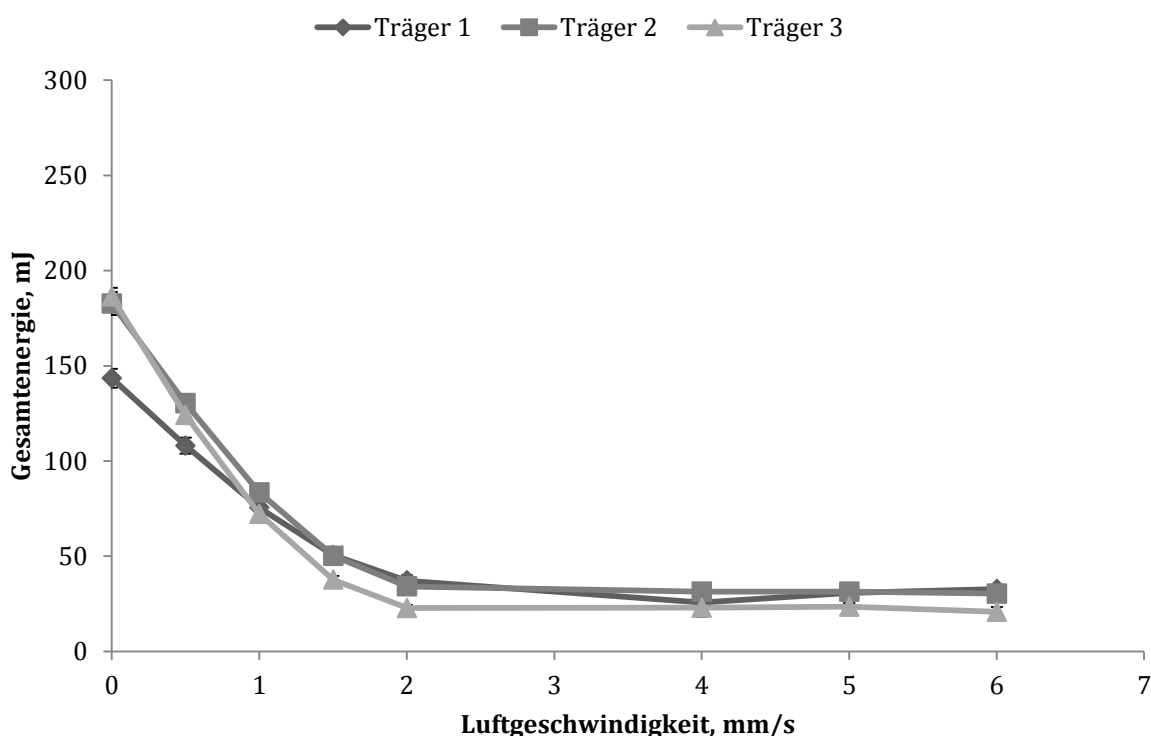


Abbildung 8.3-4: „Aeration Test“ der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Budesonid

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Fließfähigkeit der budesonidhaltigen Pulvermischungen zeigen sich bei geringeren Luftgeschwindigkeiten die niedrigsten Energiewerte für die Mischung mit Träger 1. Mit steigender Luftgeschwindigkeit kommt es auch nach Zusatz von 2% Budesonid zu einer vollständigen Fluidisierung aller drei Pulver. Die Unterschiede in der Fluidisierungsenergie sind hierbei sehr gering ausgeprägt, es zeigt sich aber eine Tendenz dahingehend, dass die niedrigste Energie für Träger 3 benötigt wird.

Außerdem liegen die Kurven für alle drei Pulvermischungen höher als für die reinen Träger (Abbildung 8.2-6). Beides ist durch den unterschiedlichen Feinanteil bedingt und zeigt, dass ein erhöhter Feinanteil auch mit einer größeren Neigung zur Agglomeratbildung einhergeht, was zu höheren Werten für die Fluidisierungsenergien führt.

8.3.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

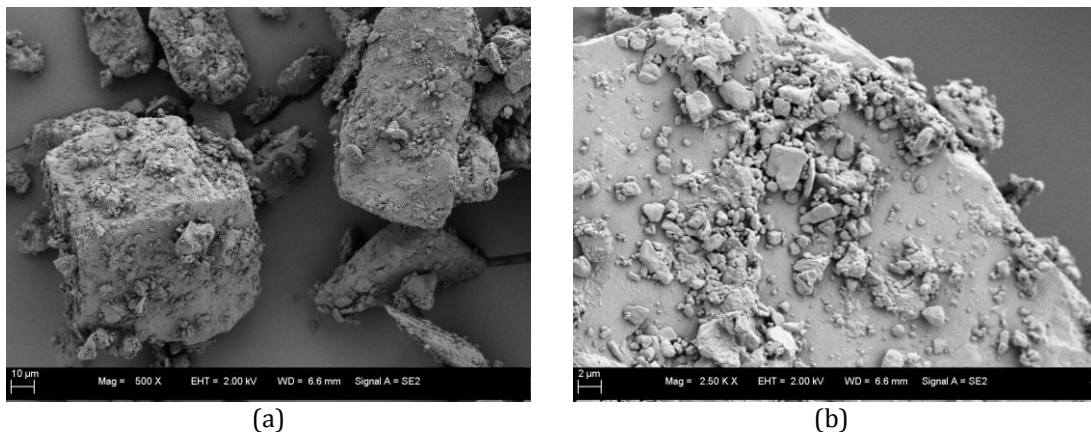


Abbildung 8.3-5: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 1 mit 2% Budesonid (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)

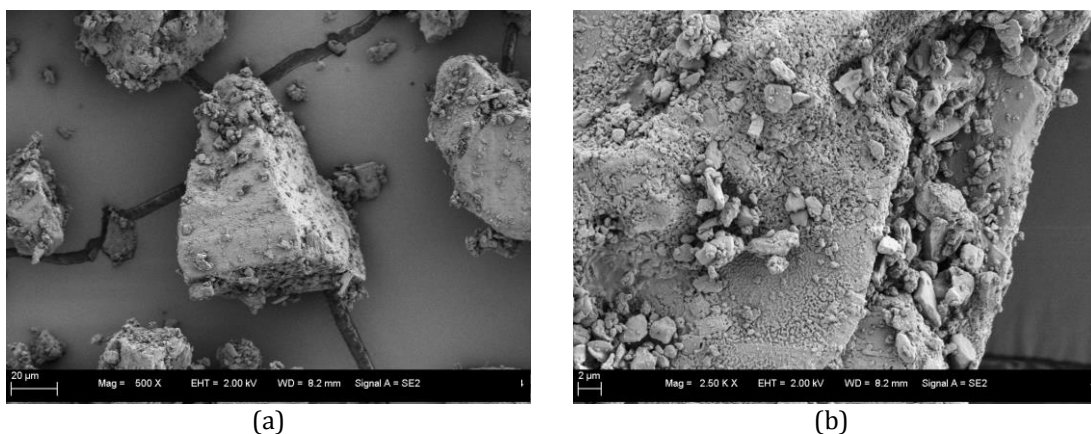


Abbildung 8.3-6: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 2 mit 2%Budesonid (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)

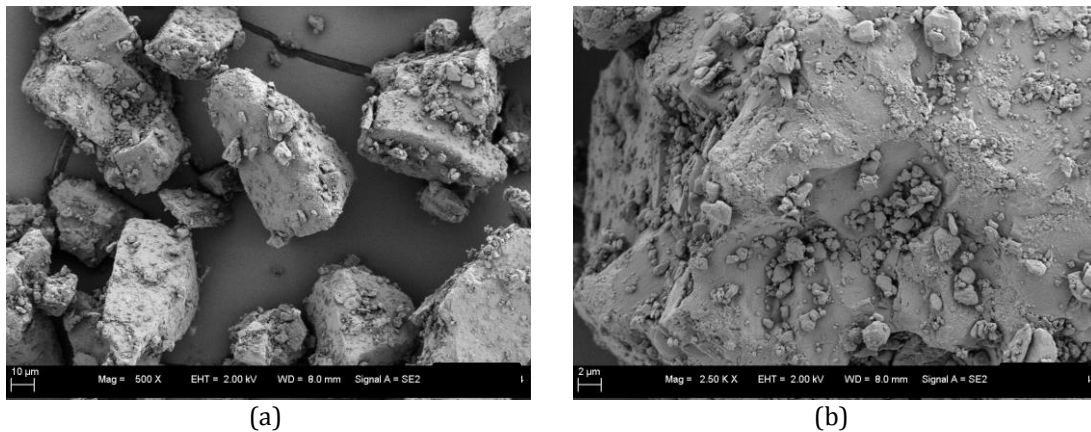


Abbildung 8.3-7: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 3 mit 2% Budesonid (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen für die Pulvermischung aus Träger 3 den geringsten Feinanteil (Abbildung 8.3-7). Dieser ist aber durch den Zusatz des mikronisierten Budesonids im Vergleich zur reinen Trägerlaktose (Abbildung 8.2-9) erhöht. Deutlich sichtbar ist auch für alle drei Pulver die bevorzugte Anlagerung mikronisierter Partikel in Kavitäten der groben Trägerlaktose.

8.4 Interaktive Pulvermischungen mit Salbutamolsulfat

8.4.1 Aerodynamische Charakterisierung

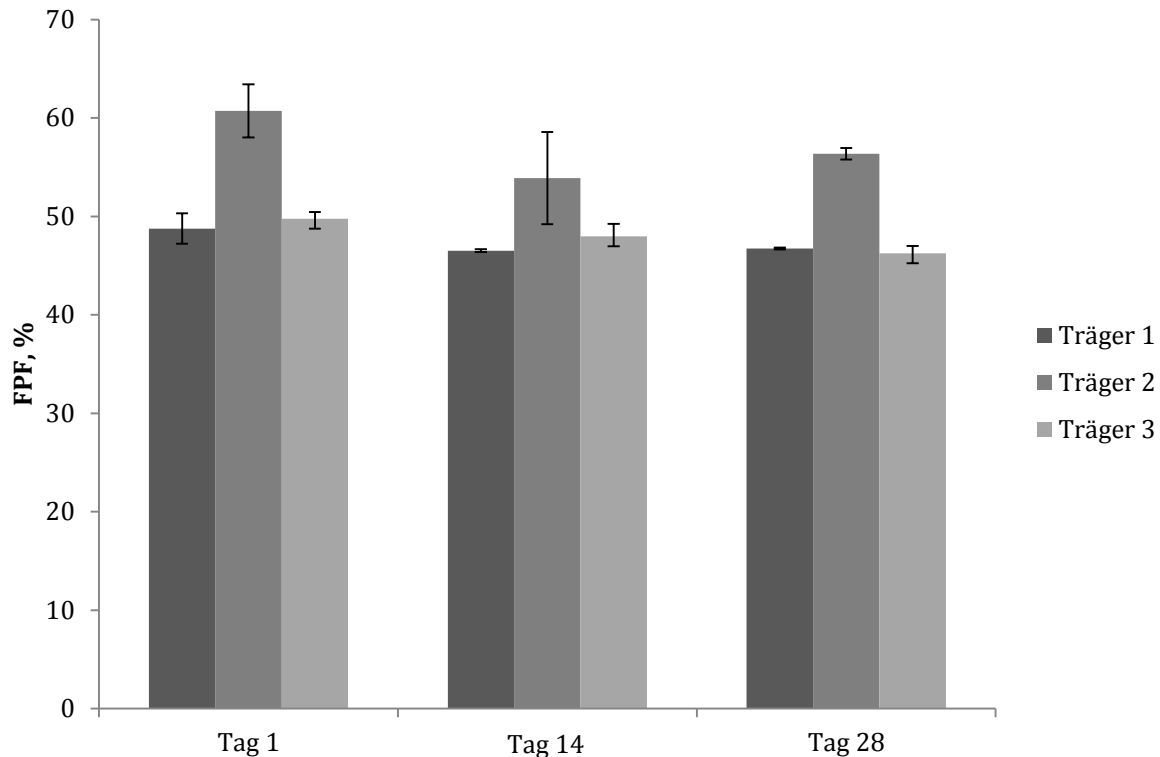


Abbildung 8.4-1: Feinpartikelfractionen der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS

Im Vergleich zu den vorher betrachteten interaktiven Pulvermischungen mit Budesonid zeigt die aerodynamische Charakterisierung der interaktiven Pulvermischungen mit 2% Salbutamolsulfat deutlich höhere Feinpartikelfractionen (Abbildung 8.4-1). Die Lagerungsdauer bei 45% relativer Feuchte hat hierbei kaum einen Einfluss. Der Vergleich der drei Pulvermischungen untereinander zeigt für die Verwendung von Träger 1 und 3 keinen signifikanten Unterschied in der Feinpartikelfraktion. Es stellt sich hier aber die schon bei der Verwendung von Budesonid beobachtete Tendenz der erhöhten Feinpartikelfraktion für die Verwendung von Träger 2 deutlicher dar.

Abbildung 8.4-2 zeigt die Depositionsprofil der drei Pulver an Tag 1.

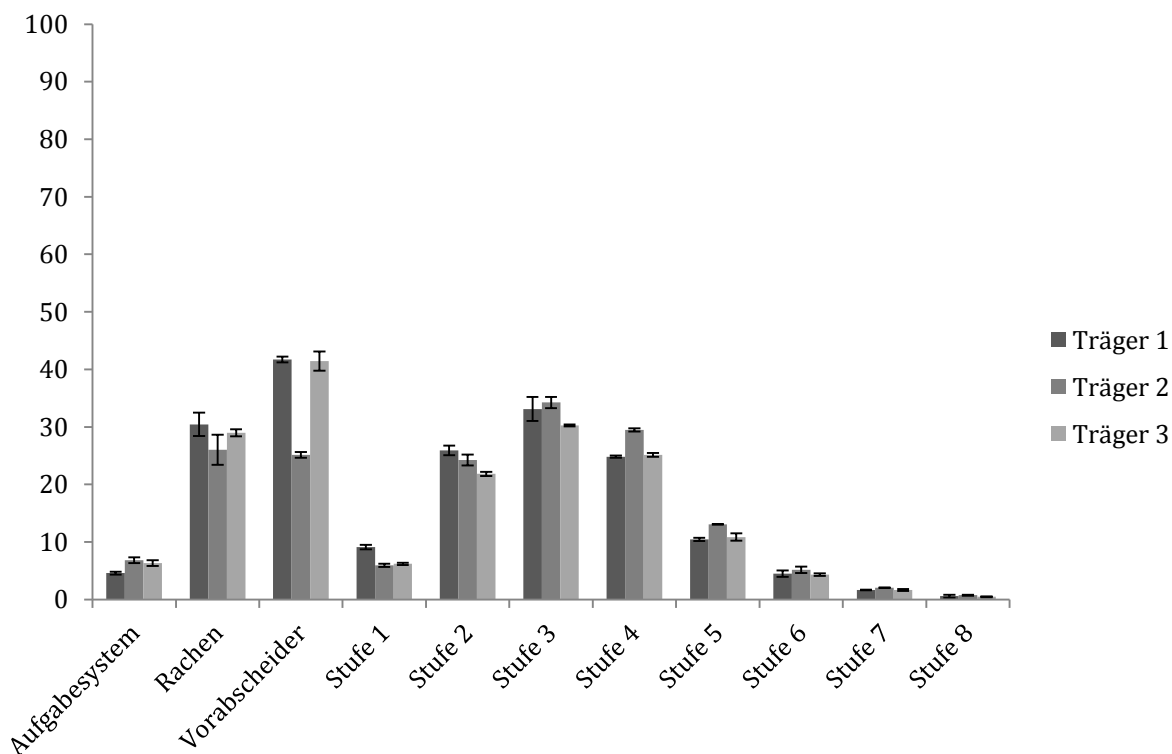


Abbildung 8.4-2: Depositionsprofile der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS nach Lagerung für 24 h bei 45% rF

Die Depositionprofile nach 24-stündiger Lagerung bei 45% relativer Feuchte zeigen ein weitestgehend ähnliches Depositionsverhalten für die Mischungen mit Träger 1 und Träger 3. Die geringere Abscheidung von Wirkstoff im Vorabscheider der Mischung aus Träger 2 und Salbutamolsulfat zeigt die Ursache für die höhere Feinpartikelfraktion dieser Pulvermischung. Aufgrund des höheren Feinanteils impaktieren weniger an die grobe Trägerlaktose gebundene Wirkstoffpartikel im Vorabscheider.

Insgesamt decken sich die Ergebnisse mit denen aus Kapitel 6.4. Für das hydrophile Salbutamolsulfat wird generell eine bessere Deagglomeration und damit höhere Feinpartikelfraktion erhalten als für das hydrophobe Budesonid. Während sich für die budesonidhaltigen interaktiven Pulvermischungen eine deutliche Zunahme in der Feinpartikelfraktion mit zunehmender Lagerungszeit ergibt (Kapitel 8.3.1), zeigt sich bei den Pulvermischungen mit Salbutamolsulfat kein Einfluss der Lagerungszeit. Bei 45% relativer Feuchte hat der Einfluss von Kapillarkräften für das hydrophile Pulver noch keine Bedeutung, da dieser erst

mit weiter steigender Feuchte zunimmt. Durch das Mischen eingebrachte elektrostatische Kräfte können hingegen durch die bessere Benetzbarkeit des Salbutamolsulfats bereits nach 24-stündiger Lagerung abgebaut werden. Es ist dadurch für diese Mischungen keine Zunahme der Feinpartikelfraktion über die Zeit zu erkennen.

Der intrinsische Feinanteil in Träger 1 führt nicht zu einem besseren Deagglomerationsverhalten, während dies beim nachträglich zugesetzten Feinanteil in Träger 2 der Fall ist. Somit scheint nicht nur die Höhe des Feinanteils allein von Bedeutung für das Deagglomerationsverhalten von interaktiven Pulvermischungen zu sein.

Zur Erklärung dieser Ergebnisse lässt sich die folgende Hypothese aufstellen. Der intrinsische Feinanteil in Träger 1 ist durch den Kristallisationsprozess bedingt und wurde nicht erst nachträglich in das Pulver durch das Mischen grober mit mikronisierter Laktose eingebracht. Dadurch sind die feineren Laktosepartikel unterschiedlich auf der groben Trägerlaktose angelagert, was auch das unterschiedliche pulverrheologische Verhalten der Träger gezeigt hat (Abbildung 8.2-5). Die intrinsischen Feinanteile in Träger 1 sind dabei fester auf der Laktose gebunden. Dadurch ist eine Agglomeratbildung zwischen Wirkstoff und feiner Laktose erschwert. In der Folge kommt es bei Träger 2 leichter zur Ausbildung von Agglomeraten zwischen mikronisierter Laktose und Wirkstoff. Dies führt zu der beobachteten höheren Feinpartikelfraktion bei nachträglich zugesetztem Feinanteil zur Laktose. Die festere Anlagerung des Feinanteils auf den gröberen Partikeln der Laktose kann außerdem zu einer Erhöhung der Oberflächenrauigkeit des Trägers führen. Der Wirkstoff wird in diesen Unebenheiten der raueren Oberfläche fester gebunden.

8.4.2 Pulverrheologie

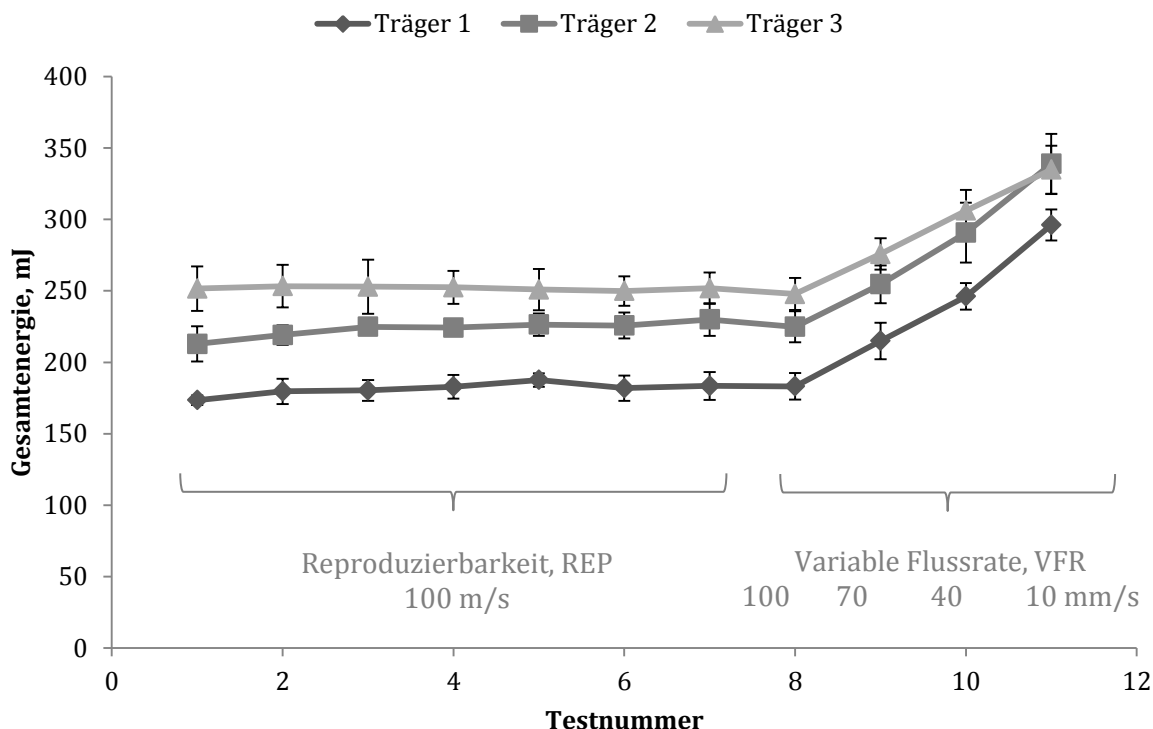


Abbildung 8.4-3: „Basic Flowability Energy“ der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS

Material und Charge	BFE, mJ	SI	SE, mJ/g	CBD, g/ml
Träger 1 + SBS	183 (±10)	1.06 (±0.05)	5.49 (±0.33)	0.593 (±0.001)
Träger 2 + SBS	230 (±11)	1.08 (±0.01)	5.73 (±0.23)	0.620 (±0.007)
Träger 3 + SBS	252 (±11)	1.00 (±0.03)	4.70 (±0.18)	0.633 (±0.011)

Tabelle 8.4-1: Ergebnisse der dynamischen, pulverrheologischen Messungen

Wie nach Zusatz des Budesonids sinkt auch für die Pulvermischungen mit Salbutamolsulfat die BFE im Vergleich zu den reinen Trägern (Abbildung 8.2-5) ab. Dies ist wiederum mit der erhöhten Möglichkeit der Agglomeratbildung nach Zusatz des mikronisierten Wirkstoffes zu erklären. Für die salbutamolsulfathaltigen Pulvermischungen ist dieser Effekt für jeden der drei Träger zu beobachten. Dadurch kommt es zu einem Unterschied zwischen Träger 3 und 2. Durch den zugesetzten Feinanteil liegt die BFE für Träger 2 niedriger. Die niedrigsten Werte werden wiederum für Träger 1 erhalten. Unterstützt werden diese Werte durch die CBD, die für Träger 3 am höchsten und für Träger 1 am

niedrigsten liegt. Auch in der SE spiegelt sich die erhöhte Agglomeration in den Pulvern mit den feinen Laktosepartikeln wider. Die niedrigen Energiewerte für Träger 1 werden wiederum in der heterogeneren Partikelgrößenverteilung und der festeren Anlagerung von Feinanteil auf der Laktoseoberfläche begründet sein. Die Partikel können sich nicht so eng packen und es resultiert ein größerer Lufteinschluss im Pulver.

In Abbildung 8.4-4 ist das Fluidisierungsverhalten der drei Pulver in Abhängigkeit von der Luftgeschwindigkeit dargestellt.

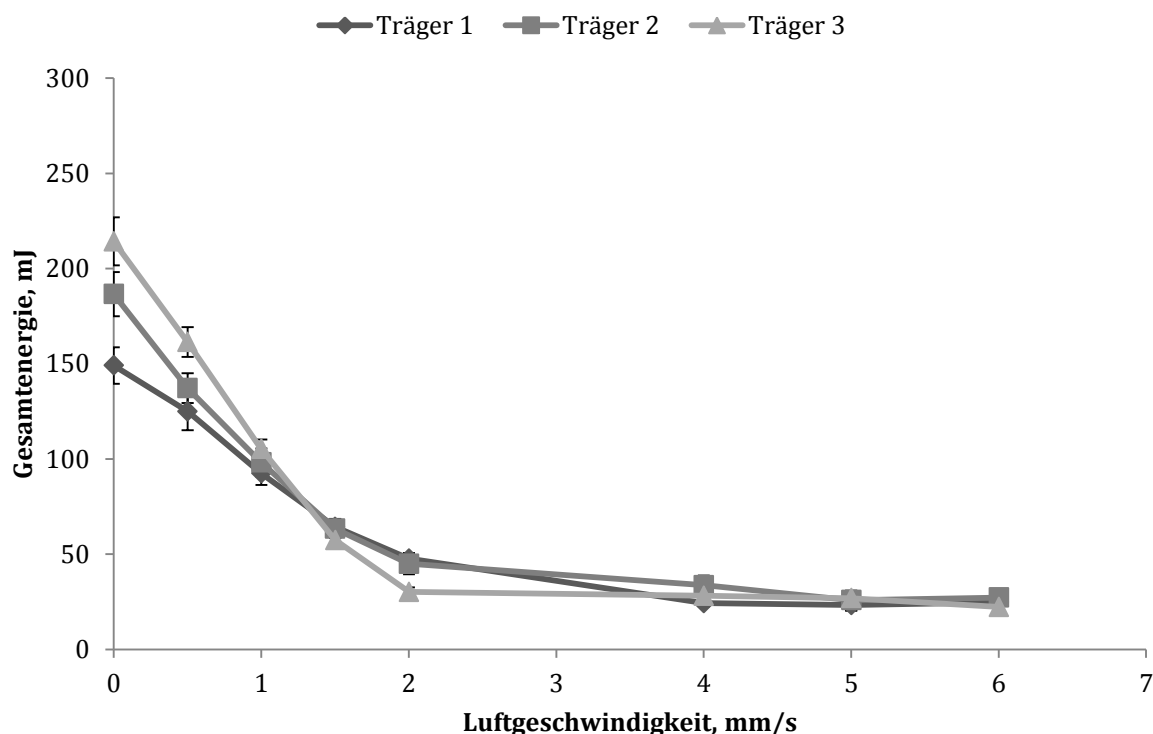
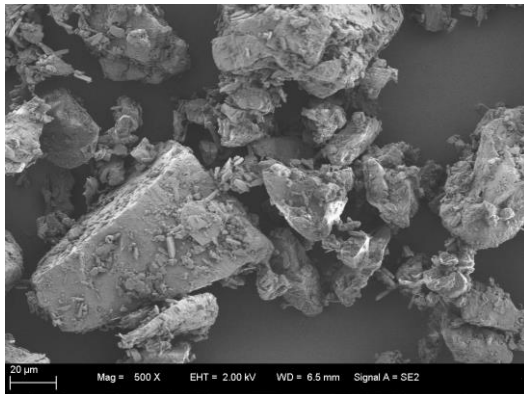


Abbildung 8.4-4: „Aeration Test“ der interaktiven Pulvermischungen mit 2% SBS

Bei niedrigen Luftgeschwindigkeiten zeigt sich wiederum ein Trend dahingehend, dass die höchste Energie zur Fluidisierung von Träger 3 benötigt wird. Bedingt durch den erhöhten Feinanteil in Träger 2 und Träger 1 zeigen sich für diese beiden Pulver niedrigere Energiewerte. Mit Erhöhung der Luftgeschwindigkeit kommt es zur vollständigen Fluidisierung aller drei Pulver. Ein Unterschied ist nicht mehr zu erkennen.

8.4.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

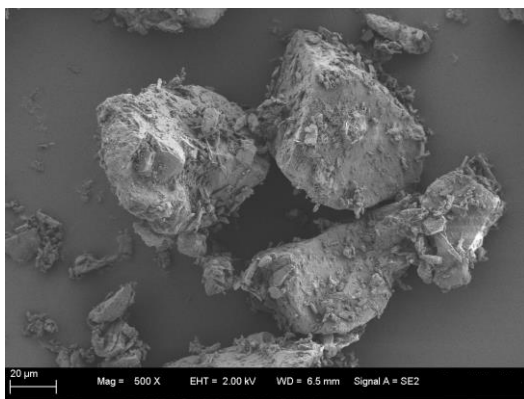


(a)

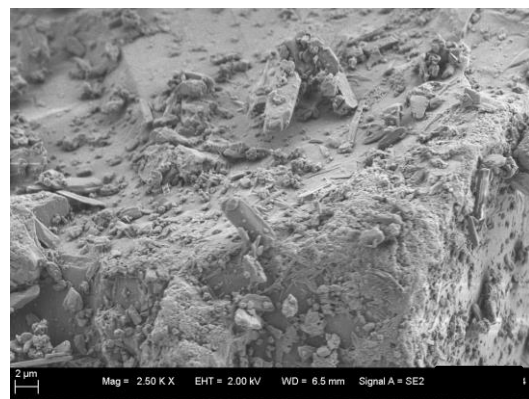


(b)

Abbildung 8.4-5: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 1 mit 2% SBS (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)

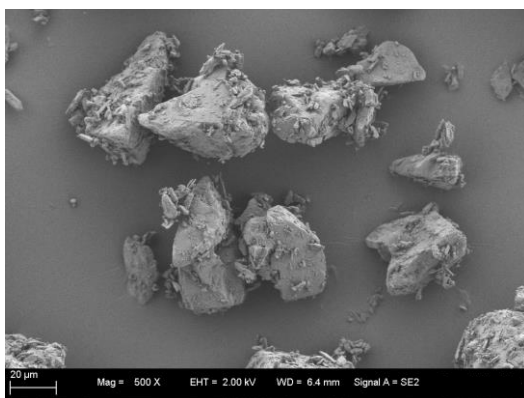


(a)

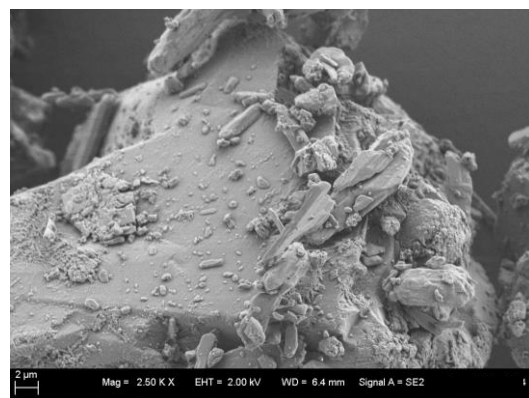


(b)

Abbildung 8.4-6: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 2 mit 2% SBS (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)



(a)



(b)

Abbildung 8.4-7: REM-Aufnahmen der interaktiven Pulvermischung von Träger 3 mit 2% SBS (a: 500-fache Vergrößerung, b: 2500-fache Vergrößerung)

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen lassen deutlich die nadelförmigen Salbutamolsulfatpartikel erkennen. Träger 3 ist weitestgehend frei von weiterem Feinanteil (Abbildung 8.4-7). Für die beiden anderen Mischungen lässt sich neben dem Salbutamolsulfat auch feine Laktose erkennen. Teilweise kommt es zur lockeren Agglomeratbildung aus Wirkstoff und mikronisierter Laktose auf der Oberfläche des Trägers (Abbildung 8.4-6).

8.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass der veränderte Kristallisationsprozess neben einer Veränderung im Feinanteil auch weitere Veränderungen in den physiko-chemischen Eigenschaften der Laktose mit sich bringt. Die beiden Trägerlaktosen weisen Unterschiede im amorphen Anteil und im anomeren Verhältnis auf. Eine Angleichung des Feinanteils von Träger 3 an Träger 1 durch Zusatz von 5% mikronisierter Laktose führte zu Unterschieden in den pulverrheologischen Eigenschaften. Es konnte für den Zusatz der mikronisierten Laktose die Entstehung einer erhöhten Anzahl an Agglomeraten postuliert werden. Zwar spiegelte sich der Zusatz der mikronisierten Laktose unter anderem in einem Absinken der BFE wider, diese wurde aber nicht bis auf das Niveau von Träger 1, mit dem intrinsischen Feinanteil gesenkt. Dies hat gezeigt, dass die Erniedrigung der BFE für Träger 1 nicht wie für Träger 2 über eine Bildung von Agglomeraten begründet werden kann. Für Träger 1 kommt es aufgrund des fester auf der Oberfläche gebundenen Feinanteils und einer insgesamt breiteren Partikelgrößenverteilung zu vermehrten Lufteinschlüssen und damit zu erniedrigten Energiewerten.

Dass der Zusatz der mikronisierten Laktose nicht zu den gleichen Eigenschaften führte wie für die Laktose mit dem intrinsischen Feinanteil, unterstützten auch die Untersuchungen der daraus hergestellten Pulvermischungen mit Budesonid beziehungsweise Salbutamolsulfat. Der durch den Kristallisationsprozess verringerte Feinanteil zeigte durch seine andere Bindung auf der Oberfläche des Trägers keinen Einfluss auf die Feinpartikelfractionen. Lediglich für den Zusatz

von 5% mikronisierter Laktose zu Träger 3 zeigte sich eine erhöhte Feinpartikelfraktion, die für Salbutamolsulfat ausgeprägter war als für das Budesonid. Dies unterstützt die schon in den vorherigen Kapiteln gemachten Beobachtungen, dass die salbutamolsulfathaltigen Pulver empfindlicher auf Veränderungen des Trägers reagieren.

9 Zusammenfassung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Quantifizierung amorpher Anteile in Laktose und deren Einfluss auf Inhalationspulver.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Quantifizierung amorpher Laktose konnte die Eignung eines von der Rekristallisation unabhängigen, gravimetrisch basierten Wasserdampfsorptionsverfahrens gezeigt werden. Die Grundlage hierfür bildet das unterschiedliche Wasseraufnahmevermögen amorpher und kristalliner Materialien. Dabei erwiesen sich zwei verschiedene Ansätze zur Auswertung als geeignet, um auch amorphe Anteile im Konzentrationsbereich kleiner 1% bestimmen zu können. Durch stufenweise Erhöhung der Feuchte wurden Adsorptionsisothermen erstellt. Obwohl amorphe Materialien keine reine Oberflächenadsorption, sondern eine tiefere Sorption von Wasser in das Material zeigen, ist eine Kalkulation des amorphen Anteils über die in monomolekularer Schicht gebundene Wassermenge möglich. Diese wird mit Hilfe der BET-Gleichung ermittelt.

Eine weitere Möglichkeit der Auswertung bietet die Massenzunahme der Probe bei einer bestimmten relativen Feuchte. Generell ist dies für jede Feuchte möglich, bei der keine Rekristallisation des Materials stattfindet. Da mit steigender Feuchte die absolut aufgenommene Wassermenge ansteigt, ist in der Folge die Differenzierung zwischen unterschiedlichen amorphen Anteilen bei höherer Feuchte genauer. Für Laktose erweist sich deshalb eine Feuchte von 30% am geeignetsten. Diese zweite Form der Auswertung bietet zudem den Vorteil, dass keine kompletten Sorptionsisothermen aufgenommen werden müssen und somit die Messzeit verkürzt werden kann.

Die Studien zur Stabilität von unterschiedlichen Inhalationspulvern ergaben eine Abhängigkeit der inhalierbaren Fraktion von zahlreichen Faktoren. Mit dem Vergleich zwischen dem hydrophoben Budesonid und dem hydrophilen Salbutamolsulfat konnten grundsätzlich Unterschiede in der Feinpartikelfraktion von Pulvern in Abhängigkeit vom gewählten Wirkstoff gezeigt werden. Für den

hydrophoben Wirkstoff kommt es zu einer verbesserten Deagglomeration der Pulver mit steigender Lagerungsdauer bei höheren Feuchten, bedingt durch die schlechte Benetzbarkeit und dem daraus folgenden langsamen Abbau elektrostatischer Kräfte. Im Gegensatz dazu dominieren für das hydrophile Salbutamolsulfat mit steigender Feuchte die Kapillarkräfte, wodurch es zu einer Verschlechterung des Deagglomerationsverhaltens kommt.

Der Zusatz gemahlener, amorpher Laktose zum Träger führte im Vergleich zum reinen Träger zu keiner Verringerung der inhalierbaren Fraktion. Durch die gemahlene, amorphe Laktose werden allerdings weitere Parameter, wie die Partikelgröße und Oberfläche der Laktose verändert. So konnte nachfolgend demonstriert werden, dass der Zusatz kristalliner und amorpher Laktose von gleicher Partikelgröße zu einer niedrigeren Feinpartikelfraktion für das amorphe Pulver führt. Dies ist dadurch bedingt, dass es bei Rekristallisation zu einer Ausbildung von Feststoffbrücken zwischen feinen amorphen Laktosepartikeln und dem Wirkstoff kommt.

Der Einfluss eines veränderten Kristallisationsprozesses für Inhalationslaktose zeigte deutliche Unterschiede in den physiko-chemischen Eigenschaften der Träger. Die untersuchten wirkstoffhaltigen Pulvermischungen dieser Träger wiesen allerdings identische Feinpartikelfractionen auf. Eine Angleichung des Feinanteils der beiden Träger durch Zusatz mikronisierter Laktose führte zu einer Erhöhung der Feinpartikelfraktion. Dies verdeutlicht, dass auch die Art und Herkunft des Feinanteils die Deagglomerationseigenschaften eines Pulvers maßgeblich mitentscheiden.

Insgesamt hat sich gezeigt, dass Pulverformulierungen zur Inhalation sehr sensibel auf Veränderungen im Trägermaterial reagieren. Eine Betrachtung einzelner Veränderungen ist nicht möglich. Auch bei Prozessen, die amorphe Anteile in Materialien einbringen, kommt es in der Regel zu weiteren Veränderungen, so dass in der Praxis immer ein Zusammenspiel aus unterschiedlichen Einflussfaktoren betrachtet werden muss. Es hat sich aber gezeigt, dass es wichtig ist die amorphen Anteile in Inhalationspulvern zu kontrollieren, um Stabilitätsproblemen vorbeugen zu können.

10 Abstract

The present study deals with the quantification of amorphous content in lactose and its influence on dry powder inhaler formulations.

For the quantification of amorphous parts in lactose the suitability of a gravimetric water sorption analysis, independent of re-crystallisation events, could be demonstrated successfully. This analysis is based on the fact that amorphous and crystalline materials show a different water sorption behavior. Two different possibilities for the analysis of the results were shown to be suitable for the quantification of amorphous parts in concentrations lower 1%. Stepwise increase of the humidity enables the creation of moisture sorption isotherms. The sorption of water by amorphous materials is not only an adsorption on the surface, but rather a deep bulk absorption. Nevertheless, a calculation of the amorphous content by the monolayer capacity is possible. The monolayer capacity can be calculated by using the BET equation.

The second approach shows the possibility to calculate the amorphous content by the increase in mass at a certain relative humidity. In general, this is possible for every relative humidity not inducing the amorphous material to re-crystallize. With higher humidity the amount of absorbed water is increasing and the differentiation between different amounts of amorphous material is more accurate at higher humidity. For lactose a relative humidity of 30% was the most convenient. This second approach has the advantage, that it is not necessary to measure complete moisture sorption isotherms. Consequently the time of analysis is shorter.

The study about the influence of amorphous content in lactose on dry powder inhaler formulations showed an influence of several factors on the fine particle fraction. The comparison between powder blends with hydrophobic budesonide on the one hand and hydrophilic salbutamol sulphate on the other hand showed a fundamental dependence of the inhalable fraction on the drug. For the hydrophobic drug, with a poor wettability, the fine particle fraction increases

with storage at higher humidity due to a slow decrease in electrostatic forces. In contrast a dominant effect of capillary forces could be observed for the hydrophilic drug with increasing humidity. This results in a decrease in fine particle fraction.

The addition of milled, amorphous lactose showed no decrease in the fine particle fraction in comparison to the crystalline carrier. By adding the milled, amorphous lactose several other factors, e.g. particle size and surface characteristics, are influenced. The addition of the same amount of crystalline and amorphous micronized lactose to the carrier resulted in a lower inhalable fraction for the amorphous carrier. Re-crystallization causes the formation of solid bridges between lactose and drug, resulting in a poorer de-agglomeration.

The influence of a changed crystallization process for inhalation grade lactose showed to influence its physico-chemical characteristics. However, interactive powder blends out of these two different carriers showed the same fine particle fractions. The adjustment of the fines content in the carrier by adding 5% micronized lactose resulted in an increase in the fine particle fraction compared to the mixture with the inherent lactose fines. This underlines that the origin of the fine lactose particles has an important influence on the performance of inhalation powders.

In summary, it could be shown, that dry powder inhaler formulations are very sensitive to changes in the carrier material. It is not possible to focus only on one single aspect. In most cases processes which are able to induce amorphous parts in materials oftentimes also change other properties, e.g. the particle size and shape. Therefore in practice a complex interaction of factors needs to be considered when evaluating changes of the inhalation performance of interactive powder blends. But it could be shown that it is important to control amorphous parts within dry powder inhaler formulation in this interaction of several influencing factors as they can lead to instability of the formulations.

11 Anhang

11.1 Abkürzungsverzeichnis

AFM	Rasterkraftmikroskopie
BFE	Basic Flowability Energy
CBD	Conditioned Bulk Density
DMSO-d ₆	deuteriertes Dimethylsulfoxid
DVS	Dynamic Vapor Sorption
DVS-HT	Dynamic Vapor Sorption - High Throughput
FPF	Feinpartikelfraktion
H-NMR	Wasserstoff-Kernspinresonanzspektroskopie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
LH 300	Lactohale® 300
m/m	Massenprozent
NGI	Next Generation Pharmaceutical Impactor
P/P ₀	Partialdampfdruck
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea, Europäisches Arzneibuch
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rF	relative Feuchte
SBS	Salbutamolsulfat
SE	Specific Energy
SI	Stabilitätsindex
W _m	Monolayerkapazität
X ₁₀	10% Quantil der Partikelgrößenverteilung
X ₅₀	50% Quantil der Partikelgrößenverteilung
X ₉₀	90% Quantil der Partikelgrößenverteilung

11.2 Literaturverzeichnis

Agu, R. U.; Ikechukwu Ugwoke, M.; Armand, M.; Kinget, R.; Verbeke, N. (2001): The lung as a route für systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. In: *Respiratory Research* 2 (4), S. 198-209

Anderson, R.B. (1946): Modifications of the Brunauer, Emmett and Teller Equation 1. In: *Journal of the American Chemical Society* 68 (4), S. 686-691.

Ashurst, I.; Malton, A.; Prime, D.; Sumbly, B. (2000): Latest advances in the development of dry powder inhalers. In: *Pharmaceutical Science & Technology Today* 3 (7), S. 246-256

Ballmann, M.; Smyth, A.; Geller, D. E. (2011): Therapeutic approaches to chronic cystic fibrosis respiratory infections with available, emerging aerosolized antibiotics. In: *Respiratory Medicine* 105, S. 2-8

Beilmann, B.; Kubiak, R.; Grab, P.; Häusler, H.; Langguth, P. (2007): Effect of interactive ternary mixtures on dispersion characteristics of ipratropium bromide in dry powder inhaler formulations. In: *AAPS PharmSciTech* 8 (2), Article 31

Brand, P.; Häußinger, K.; Meyer, T.; Scheuch, G.; Schulz, H.; Selzer, T.; Heyder, J. (1999): Intrapulmonary Distribution of Deposited Particles. In: *Journal of Aerosol Medicine* 12 (4), S. 275-284

Briggner, L.-E.; Buckton, G.; Bystrom, K.; Darcy, P. (1994): The use of isothermal microcalorimetry in the study of changes in crystallinity induced during the processing of powders. In: *International Journal of Pharmaceutics* 105 (2), S. 125-135

Bronlund, J.; Paterson, T. (2004): Moisture sorption isotherms for crystalline, amorphous and predominantly crystalline lactose powders. In: *International Dairy Journal* 14 (3), S. 247-254

Brunauer, S.; Deming, L. S.; Deming, W. E.; Teller, E. (1940): On the Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. In: *Journal of the American Chemical Society* 62 (7), S. 1723-1732

Brunauer, S.; Emmett, P. H.; Teller, E. (1938): Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. In: *Journal of the American Chemical Society* 60 (2), S. 309-319

Buckton, G.; Darcy, P. (1995): The use of gravimetric studies to assess the degree of crystallinity of predominantly crystalline powders. In: *International Journal of Pharmaceutics* 123 (2), S. 265-271

Buckton, G.; Darcy, P. (1996): Water mobility in amorphous lactose below and close to the glass transition temperature. In: *International Journal of Pharmaceutics* 136 (1-2), S. 141-146

Burnett, D. J.; Thielmann, F.; Booth, J. (2004): Determining the critical relative humidity for moisture-induced phase transitions. In: *International Journal of Pharmaceutics* 287 (1-2), S. 123-133

Butt, H.-J.; Kappl, M. (2009): Normal capillary forces. In: *Advances in colloid and interface science* 146 (1-2), S. 48-60

Caron, V.; Willart, J.-F.; Lefort, R.; Derollez, P.; Danede, F.; Descamps, M. (2011): Solid state amorphization kinetic of alpha lactose upon mechanical milling. In: *Carbohydrate research* 346 (16), S. 2622-2628

Chen, X.; Bates, S.; Morris, K. R. (2001): Quantifying amorphous content of lactose using parallel beam X-ray powder diffraction and whole pattern fitting. In: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 16 (1), S. 63-72

Chow, K. T.; Zhu, K.; Tan, R.; Heng P. W. S. (2008): Investigation of electrostatic behavior of a lactose carrier for dry powder inhalers. In: *Pharmaceutical Research* 25 (12), S. 2822-2834

Clark, A. R. (1995): Medical Aerosol Inhalers: Past, Present and Future. In: *Aerosol Science and Technology* 22 (4), S. 374-391

Colbeck, S. C. (1996): Capillary bonding of wet surfaces. In: *Surface and Coatings Technology* 81 (2-3), S. 209-214

Cordts, E. (2014): Advanced Powder Characterization Techniques for Inhalation Powder Mixtures, Dissertation. Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Cordts, E.; Steckel, H. (2012): Capabilities and limitations of using powder rheology and permeability to predict dry powder inhaler performance. In: *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 82 (2), S. 417-423

Dalby, R.; Suman, J. (2003): Inhalation therapy: technological milestones in asthma treatment. In: *Advanced drug delivery reviews* 55 (7), S. 779-791

de Boer, A. H.; Dickhoff, B. H. J.; Hagedoorn, P.; Gjaltema, D.; Goede, J.; Lambregts, D.; Frijlink, H. W. (2005): A critical evaluation of the relevant parameters for drug redispersion from adhesive mixtures during inhalation. In: *International Journal of Pharmaceutics* 294 (1-2), S. 173-184

de Boer, A. H.; Hagedoorn, P.; Gjaltema, D.; Lambregts, D.; Irngartinger, M.; Frijlink, H. W. (2004): The Mode of Drug Particle Detachment from Carrier Crystals in an Air Classifier-Based Inhaler. In: *Pharmaceutical Research* 21 (12), S. 2167-2174

Descamps, M.; Willart, J. F.; Dudognon, E.; Caron, V. (2007): Transformation of pharmaceutical compounds upon milling and comilling: the role of T(g). In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 96 (5), S. 1398-1407

Dickhoff, B.; de Boer, A. H.; Lambregts, D.; Frijlink, H. W. (2003): The effect of carrier surface and bulk properties on drug particle detachment from crystalline lactose carrier particles during inhalation, as a function of carrier payload and mixing time. In: *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2), S. 291-302

Dickhoff, B. H. J.; de Boer, A. H.; Lambregts, D.; Frijlink, H. W. (2005): The interaction between carrier rugosity and carrier payload, and its effect on drug particle redispersion from adhesive mixtures during inhalation. In: *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 59 (1), S. 197-205

Dilworth, S. E.; Buckton, G.; Gaisford, S.; Ramos, R. (2004): Approaches to determine the enthalpy of crystallisation, and amorphous content, of lactose from isothermal calorimetric data. In: *International Journal of Pharmaceutics* 284 (1-2), S. 83-94

Eilbeck, J.; Rowley, G.; Carter, P.; Fletcher, E. (2000): Effect of contamination of pharmaceutical equipment on powder triboelectrification. In: *International Journal of Pharmaceutics* 195 (1-2), S. 7-11

Elajnaf, A.; Carter, P.; Rowley, G. (2006): Electrostatic characterisation of inhaled powders: effect of contact surface and relative humidity. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 29 (5), S. 375-384

Freeman, R. (2007): Measuring the flow properties of consolidated, conditioned and aerated powders – A comparative study using a powder rheometer and a rotational shear cell. In: *Powder Technology* 174 (1-2), S. 25-33

Graeser, J. B.; Rowe, A. H. (1935): Inhalation of epinephrine for the relief of asthmatic symptoms. In: *Journal of Allergy* 6 (5), S. 415-420

Grasmeijer, F.; Frijlink, H. W.; de Boer, A. H. (2014): A proposed definition on the 'activity' of surface sites on lactose carriers for dry powder inhalation. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 56, S. 102-104

Grasmeijer, F.; Hagedoorn, P.; Frijlink, H. W.; de Boer, A. H. (2013): Drug content effects on the dispersion performance of adhesive mixtures for inhalation. In: *PloS One* 8 (8), e71339

Hancock, B.; Zografi, G. (1993): The Use of Solution Theoris for Predicting Water Vapor Absorption by Amorphous Pharmaceutical Solids: A Test of the Flory-Huggins and the Vrentas Models. In: *Pharmaceutical Research* 10 (9), S. 1262-1267

Harjunen, P.; Lankinen, T.; Salonen, H.; Lehto, V.-P.; Järvinen, K. (2003): Effects of carriers and storage of formulation on the lung deposition of a hydrophobic and hydrophilic drug from a DPI. In: *International Journal of Pharmaceutics* 263 (1-2), S. 151-163

Harjunen, P.; Lehto, V.-P.; Koivisto, M.; Levonen, E.; Paronen, P.; Järvinen, K. (2004): Determination of amorphous content of lactose samples by solution calorimetry. In: *Drug development and industrial pharmacy* 30 (8), S. 809-815

Hartmann, T. (2009): Agglomeration feiner Pulver: ein neues Verfahren zur Softpellet-Produktion, Dissertation. Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Heijerman, H.; Westerman, E.; Conway, S.; Touw, D.; Döring, G. (2009): Inhaled medication and inhalation devices for lung disease in patients with cystic fibrosis: A European consensus. In: *Journal of cystic fibrosis* 8 (5), S. 295-315

Herdegen, T. (2008): Kurzlehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 1. Auflage Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart

Hogan, S. E.; Buckton, G. (2000): The quantification of small degrees of disorder in lactose using solution calorimetry. In: *International Journal of Pharmaceutics* 207 (1-2), S. 57-64

Hoppentocht, M.; Hagedoorn, P.; Frijlink, H. W.; de Boer, A. H. (2014): Technological and practical challenges of dry powder inhalers and formulations. In: *Advanced drug delivery reviews, In Press, Available online April 2014*

Iida, K.; Hayakawa, Y.; Okamoto, H.; Danjo, K.; Luenberger, H. (2004): Influence of storage humidity on the in vitro inhalation properties of salbutamol sulphate dry powder with surface covered lactose carrier. In: *Chemical & pharmaceutical bulletin* 52 (4), S. 444-446

Jawad, R.; Elleman, C.; Vermeer, L.; Drake, A. F.; Woodhead, B.; Martin, G. P.; Royall, P. G. (2012) The measurement of the β/α anomer composition within amorphous lactose prepared by spray and freeze drying using a simple $(1)H$ -NMR method. In: *Pharmaceutical Research* 29 (2), S. 511-524

Jones, M. D.; Price, R. (2006): The influence of fine excipient particle on the performance of carrier-based dry powder inhalation formulations. In: *Pharmaceutical Research* 23 (8), S. 1665-1674

Karner, S.; Urbanetz, N. A. (2011): The impact of electrostatic charge in pharmaceutical powders with specific focus on inhalation-powders. In: *Journal of Aerosol Science* 42 (6), S. 428-445

Kim, A. I.; Akers, M. J.; Nail, S. L. (1998): The physical state of mannitol after freeze-drying: effects of mannitol concentration, freezing rate, and a noncrystallizing cosolute. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 87 (8), S. 931-935

Kollef, M. H.; Hamilton, C. W.; Montgomery, A. B. (2013): Aerosolized antibiotics: do they add to the treatment of pneumonia? In: *Current opinion in infectious diseases* 26 (6), S. 538-544

Kwok, P. C. L.; Chan H.-K. (2008): Effect of relative humidity on the electrostatic charge properties of dry powder inhaler aerosols. In: *Pharmaceutical Research* 25 (2), S. 277-288

Labiris, N. R.; Dolovich, M.B. (2003a): Pulmonary drug delivery. Part I: Physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications. In: *British Journal of Clinical Pharmacology* 56 (6), S. 588-599

Labiris, N. R.; Dolovich, M. B. (2003b): Pulmonary drug delivery. Part II: The role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications. In: *British Journal of Clinical Pharmacology* 56 (6), S. 600-612

Larhrib, H.; Martin, G. P.; Marriott, C.; Prime, D. (2003): The influence of carrier and drug morphology on drug delivery from dry powder formulations. In: *International Journal of Pharmaceutics* 257 (1-2), S. 283-296

Le, V. N. P.; Hoang Thi, T. H.; Robins, E.; Flament, M. P. (2012): In vitro evaluation of powders for inhalation: The effect of drug concentration on particle detachment. In: *International Journal of Pharmaceutics* 424 (1-2), S. 44-49

Lehto, V.-P.; Tenho, M.; Vähä-Heikkilä, K.; Harjunen, P.; Päällysaho, M.; Väliisaari, J.; Niemelä, P.; Järvinen, K. (2006): The comparison of seven different methods to quantify the amorphous content of spray dried lactose. In: *Powder Technology* 167 (2), S. 85-93

Lerk, C. F. (1987): Physikalisch-pharmazeutische Eigenschaften von Lactose. In: *Pharmazie in unserer Zeit* 16 (2), S. 39-46

Lloyd, R. J.; Dong Chen, X.; Hargreaves, J. B. (1996): Glass transition and caking of spray-dried lactose. In: *International Journal of Food Science and Technology* 31 (4), S. 305-311

Louey, M. D.; Razia, S.; Stewart, P. J. (2003): Influence of physico-chemical carrier properties on the in vitro aerosol deposition from interactive mixtures. In: *International Journal of Pharmaceutics* 252 (1-2), S. 87-98

Lucas, P.; Anderson, K.; Staniforth, J. (1998): Protein Deposition from Dry Powder Inhalers: Fine Particle Multiplets as Performance Modifiers. In: *Pharmaceutical Research* 15 (4), S. 562-569

Makower, B.; Dye, W. B. (1956): Sugar Crystallization, Equilibrium Moisture Content and Crystallization of Amorphous Sucrose and Glucose. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 4 (1), S. 72-77

Malcomson, R. J.; Embleton, J. K. (1998): Dry powder formulations for pulmonary delivery. In *Pharmaceutical Science & Technology Today* 1 (9), S. 394-398

Misra, A.; Hickey, A. J.; Rossi, C.; Borchard, G.; Terada, H.; Makino, K.; Fourie, P.B.; Colombo, P. (2011): Inhaled drug therapy for treatment of tuberculosis. In: *Tuberculosis* 91 (1), S. 71-81

Mogayzel, P. J.; Naureckas, E. T.; Robinson, L. A.; Mueller, G.; Hadjiliadis, D.; Hoag, J. B.; Lubsch, L.; Hazle, L.; Sabadosa, K.; Marshall, B. (2013): Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 187 (7), S. 680-689

Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer-Korting, M. (2001): Mutschler Arzneimittelwirkungen, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart

Newell, H. E.; Buckton, G.; Butler, D. A.; Thielmann, F.; Williams, D. R. (2001): The use of inverse phase gas chromatography to measure the surface energy of crystalline, amorphous, and recently milled lactose. In: *Pharmaceutical Research* 18 (5), S. 622-666

Newman, S. P. (1990): Metered dose pressurized aerosols and the ozone layer. In: *European Respiratory Journal* (3), S. 495-497

Newman, S. P.; Busse, W. W. (2002): Evolution of dry powder inhaler design, formulation, and performance. In: *Respiratory Medicine* 96 (5), S. 293-304

Nomura, T.; Satoh, T.; Masuda, H. (2003): The environment humidity effect on the tribo-charge of powder. In: *Powder Technology* 135-136, S. 43-49

Patil, J. S.; Sarasija, S. (2012): Pulmonary drug delivery strategies: A concise, systematic review. In: *Lung India* 29 (1), S. 44-49

Patton, J. S.; Fishburn, C. S.; Weers, J. G. (2004) The Lungs as a Portal of Entry for systemic Drug Delivery. In: *Proceedings of the American Thoracic Society* 1 (4), S. 338-344

Ph. Eur. , Europäisches Arzneibuch, 7. amtliche deutsche Ausgabe

Pilcer, G.; Wauthoz, N.; Amighi, K. (2012): Lactose characteristics and the generation of the aerosol. In: *Lactose as a carrier for inhalation products* 64 (3), S. 233-256

Pilette, C.; Ouadrhiri, Y.; Godding, V.; Vaerman, J.-P.; Sibille, Y. (2001): Lung mucosal immunity: immunoglobulin-A revisited. In: *European Respiratory Journal* 18 (3), S. 571-588

Podzeck, F. (1996): Assessment of the mode of adherence and the deformation characteristics of micronized particles adhering to various surfaces. In: *International Journal of Pharmaceutics* 145 (1-2), S. 65-76

Podzeck, F. (1998): Particle-particle Adhesion in Pharmaceutical Powder Handling, Band 1, Imperial College Press, London.

Price, R.; Young, P. M.; Edge, S. Staniforth, J. N. (2002): The influence of relative humidity on particulate interactions in carrier-based dry powder inhaler formulations. In: *International Journal of Pharmaceutics* 246 (1-2), S. 47-59

Prime, D. (1997): Review of dry powder inhalers. In: *Advanced drug delivery reviews* 26 (1), S. 51-58

Rahimpour, Y.; Kouhsoltani, M.; Hamishehkar, H. (2014): Alternative carriers in dry powder inhaler formulations. In: *Drug Discovery Today* 19 (5), S. 618-626

Rau, J. L. (2005): The Inhalation of Drugs: Advantages and Problems. In: *Respiratory Care* 50 (3), S. 367-382

Roos, Y.; Karel, M. (1992): Crystallization of Amorphous Lactose. In: *Journal of Food Science* 57 (3), S. 775-777

Saleki-Gerhardt, A.; Ahlneck, C.; Zografi, G. (1994): Assessment of disorder in crystalline solids. In: *International Journal of Pharmaceutics* 101 (3), S. 237-247

Sanjar, S.; Matthews, J. (2001); Treating systemic diseases via the lung. In: *Journal of aerosol medicine* 14 (1), S. 51-58

Santos Cavaiola, T.; Edelman, S. (2014): Inhaled Insulin: A Breath of Fresh Air? A Review of Inhaled Insulin. In: *Clinical Therapeutics*, In Press, Available online July 2014

Scherließ, R. (2011): Delivery of antigens used for vaccination: recent advances and challenges. In: *Therapeutic Delivery* 2 (10), S. 1351-1368

Sebhatu, T.; Angberg, M.; Ahlneck, C. (1994): Assessment of the degree of disorder in crystalline solids by isothermal microcalorimetry. In: *International Journal of Pharmaceutics* 104 (2), S. 135-144

Shur, J.; Harris, H. ; Jones, M. D.; Kaerger, J. S.; Price, R. (2008): The role of fines in the modification of the fluidization and dispersion mechanism within dry powder inhaler formulations. In: *Pharmaceutical Research* 25 (7), S. 1631-1640

Siekmeier, R.; Scheuch, G. (2009): Treatment of systemic diseases by inhalation of biomolecule aerosols. In: *Journal of physiology and pharmacology* 60 (5), S. 15-26

Stank, K.; Steckel, H. (2013): Physico-chemical characterisation of surface modified particles for inhalation. In: *International Journal of Pharmaceutics* 448 (1), S. 9-18

Steckel, H.; Bolzen, N. (2004): Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. In: *International Journal of Pharmaceutics* 270 (1-2), S. 297-306

Steckel, H.; Markefka, P.; teWierik, H.; Kammelar, R. (2004): Functionality testing of inhalation grade lactose. In: *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (3), S. 495-505

Storey, R. A.; Ymén, I. (2011): Solid State Characterization of Pharmaceuticals, 1. Auflage, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex

Tee, S.; Marriott, C.; Zeng, X.; Martin, G. (2000): The use of different sugars as fine and coarse carriers for aerosolised salbutamol sulphate. In: *International Journal of Pharmaceutics* 208 (1-2), S. 111-123

Telko, M. J.; Hickey, A. J. (2005): Dry powder inhaler formulation. In: *Respiratory care* 50 (9), S. 1209-1227

Timmermann, E. O.; Chirife, J.; Iglesias, H. A. (2001): Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? In: *Journal of Food Engineering* 48 (1), S. 19-31

Tölpel, A. (2004): Chemie und Physik der Milch - Naturstoff, Rohstoff, Lebensmittel, 1. Auflage, Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg, S. 85-131

Tronde, A.; Nordén, B.; Marchner, H.; Wendel, A.-K.; Lennernäs, H.; Bengtsson, U. H. (2003): Pulmonary absorption rate and bioavailability of drugs in vivo in rats: Structure-absorption relationships and physicochemical profiling of inhaled drugs. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 92 (6), S. 1216-1233

Urbanetz, N. A. (2006): Pulverinhalatoren- Physikalische Einflüsse steuern die pulmonale Deposition. In: *Pharmazeutische Zeitung* 40/2006

Vidgren, M. T.; Paronen, T. P.; Kärkkäinen, A.; Karjalainen, P. (1987): Effect of extension devices on the drug deposition from inhalation aerosols. In: *International Journal of Pharmaceutics* 39 (1-2), S. 107-112

Virchow, J. C.; Crompton, G. K.; Dal Negro, R.; Pedersen, S.; Magnan, A.; Seidenberg, J.; Barnes, P. J. (2008): Importance of inhaler devices in the management of airway disease. In: *Respiratory medicine* 102 (1), S. 10-19

Vollenbroek, J.; Hebbink, G. A.; Ziffels, S.; Steckel, H. (2010): Determination of low levels of amorphous content in inhalation grade lactose by moisture sorption isotherms. In: *International Journal of Pharmaceutics* 395 (1-2), S. 62-70

Ward, G.; Schultz, R. (1995): Process-Induced Crystallinity Changes in Albuterol Sulfate and Its Effect on powder Physical Stability. In: *Pharmaceutical Research* 12 (5), S. 773-779

Willart, J. F.; Dujardin, N.; Dudognon, E.; Danède, F.; Descamps, M. (2010): Amorphization of sugar hydrates upon milling. In: *Carbohydrate research* 345 (11), S. 1613-1616

Wittmann, R. (2010): Laktose zur Inhalation – Einfluss der amorphen Anteile auf Performance und Stabilität von Pulvermischungen, Diplomarbeit. Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Yang, M. Y.; Chan, J. G. Y.; Chan, H.-K. (2014): Pulmonary drug delivery by powder aerosols. In: *Journal of Controlled Release*, In Press, Available online Mai 2014

Young, P. M.; Edge, S.; Traini, D.; Jones, M. D.; Price, R.; El-Sabawi, D.; Urry, C.; Smith, C. (2005): The influence of dose on the performance of dry powder inhalation systems. In: *International Journal of Pharmaceutics* 296 (1-2), S. 26-33

Young, P. M.; Price, R. (2004): The influence of humidity on the aerosolisation of micronized and SEDS produced salbutamol sulphate. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (4), S. 235-240

Young, P. M.; Price, R.; Tobyn, M. J.; Buttrum, M.; Dey, F. (2003): Effect of humidity on aerosolization of micronized drugs. In: *Drug development and industrial pharmacy* 29 (9), S. 959-966

Young, P. M.; Sung, A.; Traini, D.; Kwok, P.; Chiou, H. Chan, H.-K. (2007): Influence of humidity on the electrostatic charge and aerosol performance of dry powder inhaler carrier based systems. In: *Pharmaceutical Research* 24 (5), S. 963-970

Zeng, X. M.; Martin, G. P.; Marriott, C. (2001a): Particulate Interactions in Dry Powder Formulations for Inhalation, Band 1. Taylor & Francis, London.

Zeng, X. M.; Martin, G. P.; Marriott, C.; Pritchard, J. (2001b): Lactose as a carrier in dry powder formulations: the influence of surface characteristics on drug delivery. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 90 (9), S. 1424-1434

Zeng, X. M.; MacRitchie, H. B.; Marriott, C.; Martin G. P. (2007): Humidity-induced changes of the aerodynamic properties of dry powder aerosol formulations containing different carriers. In: *International Journal of Pharmaceutics* 333 (1-2), S. 45-55

Zeng, X. M.; Martin, G. P.; Marriott, C.; Pritchard, J. (2000): The Effects of Carrier Size and Morphology on the Dispersion of Salbutamol Sulphate after Aerosolization at Different Flow Rates. In: *Journal of Pharmacy und Pharmacology* 52 (10), S. 1211-1221

Zeng, X. M.; Martin, G. P.; Tee, S.-K.; Marriott, C. (1998): The role of fine particle lactose on the dispersion and deaggregation of salbutamol sulphate in an air stream in vitro. In: *International Journal of Pharmaceutics* 176 (1), S. 99-110

Zeng, X. M.; Martin, G. P.; Tee, S.-K.; Ghoush, A. A.; Marriott, C. (1999): Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation. In: *International Journal of Pharmaceutics* 182 (2); S. 133-144

Zhang, J.; Ebbens, S.; Chen, X.; Jin, Z.; Luk, S.; Madden, C.; Patel, N.; Roberts, C. (2006): Determination of the Surface Free Energy of Crystalline and Amorphous Lactose by Atomic Force Microscopy Adhesion Measurement. In: *Pharmaceutical Research* 23 (2), S. 401-407

Zhang, J.; Zografi, G. (2000): The relationship between "BET" and "free volume"-derived parameters for water vapor absorption into amorphous solids. In: *Journal of Pharmaceutivcal Sciences* 89 (8), S. 1063-1072

Ziffels, S. (2009): Modifizierte Laktose zur Direkttablettierung – Untersuchungen zu Herstellung, Analytik und Tablettierbarkeit, Dissertation. Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Zografi, G. (1998): States of Water Associated with Solids. In: *Drug Development and Industrial Pharmacy* 14 (14), S. 1905-1926

Danksagung

Die erfolgreiche Anfertigung der vorliegenden Arbeit habe ich der Unterstützung vieler Menschen zu verdanken, die mich auf diesem Weg begleitet und unterstützt haben.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Steckel für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Überlassung dieses interessanten und aktuellen Themas danken. Er gab mir stets den Freiraum das Thema nach meinen eigenen Vorstellungen selbstständig zu bearbeiten, stand mir auf der anderen Seite aber auch jederzeit mit fachliche Diskussionen und Ratschlägen zur Seite.

Herrn Prof. Dr. Peifer möchte ich für seine Bereitschaft zur Übernahme des Zweitgutachtens danken.

Herrn Dr. Eugen Schwarz und Frau Dr. Eva-Maria Littringer der Firma Meggle danke ich für die stets unkomplizierte und nette Zusammenarbeit.

Für die sehr gute Zusammenarbeit in den zahlreichen Stunden, die wir abseits unserer eigentlichen Promotionsarbeit mit der Betreuung der Studentenpraktika verbracht haben, möchte ich mich bei Eike, Simon, Sabrina, Janine, Ann-Kathrin, Katha und Thea bedanken.

Für die langen Jahre mit netten Gesprächen im gemeinsamen Büro danke ich Kirsten. Auch bei Ann-Kathrin bedanke ich für die letzten Monate, in denen Sie mir in der Phase des Zusammenschreibens im Büro zur Seite stand.

Aus einigen Kollegen sind mit der Zeit gute Freunde geworden. Kirsten, Sabrina, Katha, Gereon und Eike danke ich für die nette Zeit am Institut, aber auch die vielen gemeinsamen Stunden abseits der Arbeit. Unsere gemeinsamen Städtereisen, Skiurlaube, Radtouren und Spieleabende werden mir immer in sehr schöner Erinnerung bleiben.

Ein großer Dank gilt Eike, Ann-Kathrin, meiner Mutter und Timo für die investierte Zeit des sehr aufmerksamen Korrekturlesens der vorliegenden Arbeit. Durch eure Anmerkungen und die Kritik an so manchen Formulierungen, habt ihr einen nicht unwesentlichen Anteil am Gelingen dieser Arbeit gehabt.

Lars, Gereon und vor allem Mathias danke ich für die Anfertigung zahlreicher REM-Aufnahmen.

Dirk, Kalle, Detlef und Volkmar danke ich für die Unterstützung bei technischen Problemen jeglicher Art.

Hanna, Maren und Regina K. danke ich für die immer wieder nötige Unterstützung bei Problemen mit den HPLC-Anlagen.

Rüdi möchte ich zum einen für die zahlreichen röntgendiffraktometrischen Untersuchungen zur Beantwortung der immer wieder alles entscheidenden Frage, ob die Laktose denn auch wirklich amorph sei und zum anderen für die Anfertigung der Zeichnungen für meine Arbeit und meinen Disputationsvortrag danken.

Mein größter Dank gilt Timo für die Unterstützung über all die Jahre hinweg. Mit deiner unendlichen Ruhe hast uns über so manch nervenaufreibende Zeit hinweggeholfen und mich immer wieder dazu angehalten die Dinge optimistisch anzugehen und den Kopf nicht hängen zu lassen. Danke, dass ich immer auf dich zählen kann!

Mein letzter Dank gilt meiner Familie. Es ist schön zu wissen, dass ich mich auch auf euch immer verlassen. Insbesondere meinen Eltern danke ich von Herzen für die Unterstützung in jeglicher Hinsicht auf diesem doch insgesamt sehr langen Ausbildungsweg.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Ronja Wittmann
Geburtsdatum und -ort: 22.06.1985 in Eckernförde
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Ausbildung:

1991 – 1995 Theodor-Storm-Schule, Hohn
1995 – 2004 Gymnasium Kronwerk, Rendsburg

Studium

September 2004 – Dezember 2004 Studium der Biotechnologie und
Verfahrenstechnik,
Fachhochschule Flensburg
April 2005 – Mai 2009 Studium der Pharmazie,
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
März 2007 1. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Mai 2009 2. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

Praktische Ausbildung

Juli 2009 – Dezember 2009 Pharmaziepraktikantin,
Wellsee-Apotheke, Kiel
Januar 2010 – Juni 2010 Anfertigung einer Diplomarbeit am
Pharmazeutischen Institut
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
September 2010 3. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Oktober 2010 Diplomprüfung

Promotion

Oktober 2010 – September 2014 am Pharmazeutischen Institut
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Erklärung nach § 8 der Promotionsordnung

Hiermit erkläre ich gemäß § 8 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, dass ich die vorliegende Arbeit, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen oder Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die vorliegende Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis entstanden und wurde bei keiner anderen Universität zur Begutachtung eingereicht.

Ronja Wittmann